

EINE NEUUNTERSUCHUNG DER DROGE LIGNUM SASSAFRAS
(SASSAFRAS ALBIDUM NEES)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
MANFRED HÖKE
aus Münster/Westf.

Berlin 1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINE NEUUNTERSUCHUNG DER DROGE LIGNUM SASSAFRAS
(SASSAFRAS ALBIDUM NEES)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
MANFRED HÖKE
aus Münster/Westf.

Berlin 1971



Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. G. Schenk

Tag der mündlichen Prüfung: 25.10.71

Tag der Promotion :

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Herrn Professor Dr. R. Hänsel möchte ich herzlich danken für seine Bemühungen, mich in die wissenschaftlichen Arbeitsmethoden des Faches einzuführen, für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat und für zahlreiche Ratschläge, die für mich wertvoll und anregend waren.

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. H. Rimpler, insbesondere für die klärende Diskussion der Spektren, sowie bei Frau Professor Dr. L. Langhammer und Herrn Professor Dr. R. Gmelin, die mir stets mit Rat und Auskünften behilflich waren.

Ich danke Fräulein J. Schulz und Herrn Dr. L. Opitz für das Zeichnen der Formeln und Spektren und Herrn W. Bähr für die Ausführung der Fotoarbeiten.

Allen Mitarbeitern am Institut für Pharmakognosie danke ich für die gute Zusammenarbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung.....	
2. Literaturteil.....	10
2.1. Charakterisierung der Familie der Lauraceen und der Art <i>Sassafras albidum</i> NEES	
2.1.1. Systematische Stellung, botanische Beschreibung und Untergliederung der Familie der Lauraceen.....	10
2.1.2. Botanische Beschreibung der Art <i>Sassafras albidum</i> NEES.....	12
2.1.3. Chemie der Lauraceen - Inhaltsstoffe.....	14
2.1.4. Vergleichende Phytochemie der Lauraceen und Piperaceen.....	17
2.2. Die Droge: <i>Lignum Sassafras</i>	
2.2.1. Geschichtliches.....	18
2.2.2. Anatomisch-morphologische Beschreibung...	18
2.2.3. Bisher beschriebene Inhaltsstoffe der Droge.....	20
2.2.4. Verwendung der Droge.....	20
2.3. Allgemeines über Lignane	
2.3.1. Definition und Biosynthese.....	22
2.3.2. Gliederung der Lignane nach Strukturtypen.....	24
3. Eigene Untersuchungen.....	28
3.1. Hauptteil	
3.1.1. Analytische und präparative Chromatographie der lipophilen Inhaltsstoffe aus <i>Lignum Sassafras</i>	28
3.1.2. Zwei Lignane aus <i>Lignum Sassafras</i>	30
3.1.2.1. Isolierung der Verbindung Sass 1.....	30
3.1.2.2. Identifizierung der Verbindung Sass 1....	30
3.1.2.2.1. Spektroskopische Methoden.....	30
3.1.2.2.2. Relative und absolute Konfiguration von Sass 1.....	40
3.1.2.2.3. Mischschmelzpunkt, Dc-Vergleich, IR-Überlagerungsspektrum und Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure.....	42

3.1.2.3.	Isolierung der Verbindung Sass 2.....	44
3.1.2.4.	Charakterisierung der Verbindung Sass 2..	44
3.1.2.4.1.	Spektroskopische Methoden.....	44
3.1.2.4.2.	Thermischer Abbau (64) der Verbindung Sass 2.....	48
3.1.2.4.3.	Charakteristische Unterschiede in den UV-Spektren der Verbindung Sass 1 und Sass 2.....	49
3.1.2.4.4.	Relative und absolute Konfiguration von Sass 2.....	49
3.1.3.	Zwei einfache Phenylpropane aus Lignum Sassafras.....	51
3.1.3.1.	Isolierung der Verbindung Sass 3.....	51
3.1.3.2.	Identifizierung der Verbindung Sass 3....	51
3.1.3.2.1.	Spektroskopische Methoden.....	51
3.1.3.2.2.	Vergleich von Sass 3 mit synthetischem 3,4-Methylenedioxybenzaldehyd (= Pipe- ronylakrolein).....	53
3.1.3.3.	Isolierung der Verbindung Sass 4.....	54
3.1.3.4.	Charakterisierung der Verbindung Sass 4..	54
3.1.3.4.1.	Spektroskopische Methoden.....	54
3.1.3.4.2.	Strukturbeweis durch Vergleich mit syn- thetisiertem (+) 2,3 Dihydroxy-1-(3,4- methylenedioxyphenyl)propan (=Safrol- glycol).....	58
3.1.4.	Ein Steroidgemisch aus Lignum Sassafras..	59
3.1.4.1.	Isolierung der Substanz Sass 5.....	59
3.1.4.2.	Identifizierung der Substanz Sass 5.....	59
3.1.4.2.1.	Spektroskopische Methoden.....	59
3.1.4.2.2.	Optische Drehung der Substanz Sass 5.....	63
3.1.4.2.3.	Acetylierung und DC-Vergleich.....	64
3.2.	Experimenteller Teil	
3.2.1.	Allgemeine Angaben.....	66
3.2.2.	Herkunft der Droge.....	68
3.2.3.	DC-Prüfung des Methylenchloridextraktes..	68
3.2.4.	Isolierung der Substanzen Sass 1, 2, 3, 4 und 5.....	68
3.2.5.	Eigenschaften von (+)-Sesamin (Sass 1)...	70
3.2.6.	Eigenschaften von Desmethoxyaschantin (Sass 2).....	71

3.2.7.	Thermischer Abbau von Desmethoxy- aschantin.....	72
3.2.8.	Eigenschaften von Piperonylakrolein (Sass 3).....	73
3.2.9.	Piperonylakrolein als synthetische Ver- gleichssubstanz.....	73
3.2.10.	Eigenschaften von (+)-Safrolglycol (Sass 4).....	74
3.2.11.	Synthese von ($\pm$) - Safrolglycol.....	74
3.2.12.	Eigenschaften von Sass 5.....	75
4.	Diskussion.....	77
5.	Zusammenfassung.....	80
6.	Literaturverzeichnis.....	81
7.	Lebenslauf.....	86

Im Rahmen früherer Untersuchungen beschrieben ZANDER (1), HÄNSEL (2,3) und SAUER (4) lipophile Inhaltsstoffe aus verschiedenen Piperaceen-Arten. ZANDER fand in den Früchten von *Piper guinense* SCHUMACH. et THONN. die Lignane Pseudocubebin =(+)-Sesamin und Aschantin. HÄNSEL fand in Früchten der gleichen Art, aber anderer Herkunft, das Lignan Yangambin, dessen Auftreten sich zur Piperinführung der Früchte korrelieren ließ. Aus dem Rhizom von *Piper methysticum* isolierte HÄNSEL neben den bekannten Kawa-Lactonen (5) das 11-Methoxy-Yangonin. SAUER isolierte aus einer endemischen Piper-Art Neu Guineas 7 Substanzen vom Typus der Kawa-Lactone (Desmethoxy-Yangonin, Yangonin, 11-Methoxy-Yangonin, 11-Methoxy-12-nor-Yangonin, Dihydrokawain, Dihydromethysticin, Methysticin).

Aus Rinde und Holz einiger Lauraceen-Arten sind Substanzen bekannt, die den oben erwähnten Piperaceen-Inhaltsstoffen chemisch sehr ähnlich oder die sogar mit ihnen identisch sind. So fanden W.B.MORS und Mitarbeiter in bestimmten Aniba-Arten (Lauraceae) α -Pyrone (6), was uns veranlaßte, die zur gleichen Familie gehörende altbekannte Droge Lignum Sassafras erneut zu untersuchen.

In diesem Zusammenhang war für uns von Interesse, daß die Autoren der neueren Systematiken der Blütenpflanzen die Lauraceen und die Piperaceen unter morphologischen und phylogenetischen Aspekten als eindeutig miteinander verwandt ansehen. CRONQUIST (7) schließt die Ordnung der Piperales (3. Familie: Piperaceae) an die Ordnung der Magnoliales an (18. Familie: Lauraceae): "The Piperales are clearly derived from the Magnoliales". TAKHTAJAN, der die Magnoliales sensu CRONQUIST in drei eigene Ordnungen aufteilt, schließt die Piperales den Laurales an: "Piperales. Nearest to the Laurales." (8)

Im Verlaufe der vorliegenden Arbeit sollte der lipophile Extrakt aus Lignum Sassafras zunächst chromatographisch geprüft werden, evtl. nachzuweisende Inhaltsstoffe sollten isoliert und identifiziert werden, und schließlich sollte die Frage diskutiert werden, ob die gefundenen Stoffe in chemosystematischer und in pharmazeutischer Sicht von Interesse sind.

2.

LITERATURTEIL

2.1. Charakterisierung der Familie der Lauraceen und der Art *Sassafras albidum* NEES.

2.1.1. Systematische Stellung, botanische Beschreibung und Untergliederung der Familie der Lauraceen.

Die Lauraceen werden allgemein in die ursprünglichsten Verwandtschaftsgruppen der heute lebenden Angiospermen gestellt. In ENGLER's Syllabus der Pflanzenfamilien (9) stehen die Lauraceen mit 21 weiteren Familien in der Reihe der Magnoliales. Innerhalb der Reihe werden sechs Familiengruppen unterschieden:

- 1) Magnoliaceae - Degeneriaceae - Himantandraceae - Winteraceae - Annonaceae - Eupomatiaceae - Myristicaceae - Canellaceae
- 2) Schisandraceae - Illiaceae
- 3) Austrobaileyaceae - Trimeniaceae - Amborellaceae - Monimiaceae - Calycanthaceae - Gomortegaceae - Lauraceae - Hernandiaceae.
- 4) Tetracentraceae - Trochodendraceae
- 5) Eupteleaceae
- 6) Cercidiphyllaceae

Die drei letzten Familiengruppen stehen isoliert - weder TAKHTAJAN (8) noch CRONQUIST (7) nehmen eine derart enge Verwandtschaft mit den drei ersten Gruppen an.

Die Ordnung der Magnoliales sensu CRONQUIST umfaßt die Familiengruppen 1), 2) und 3) nach ENGLER und außerdem die Familie der Lactoridaceae, die ENGLER in die Reihe der Piperales stellt (allerdings mit dem Vermerk, die Stellung der Familie sei unsicher; sie werde auch als ein von den Winteraceae abgeleiteter Typus angesehen).

TAKHTAJAN faßt die Familien der

Austrobaileyaceae, Amborellaceae, Trimeniaceae, Monimiaceae (einschließlich Atherospermataceae), Gomortegaceae, Hernandiaceae,

Chloranthaceae, Lactoridaceae, Calycanthaceae, Lauraceae und Gyrocarpaceae zur Ordnung der Laurales zusammen.

Innerhalb ihrer Reihe bzw. Ordnung weisen die Lauraceen eine relativ hohe Zahl abgeleiteter Merkmale auf. In der folgenden Aufzählung der Familieneigenschaften sind die abgeleiteten Merkmale mit *) gekennzeichnet.

Blüten zyklisch *), meist dreizählig, homöiochlamydeisch, zwittrig oder eingeschlechtig, $\pm$ perigyn *), Blütenachse teller- bis krugförmig *), Tepalen 2+2 oder 3+3, selten 3+3+3 oder 0. Androezeum fast stets tetrazyklisch, der innere Kreis, z.T. auch die beiden äußeren Kreise, staminoidal oder sogar fehlend. Fertile Stamina meist 9. Stamina des dritten Kreises an der Basis mit zwei seitlichen "Drüsen". Antheren dithezisch *), mit vier oder zwei Klappen aufspringend. Androezeum in den weiblichen Blüten $\pm$ vollständig ausgebildet, stets steril. Karpelle (3) *), Gynoezeum pseudomonomer *), Ovar einfächerig. Griffel vorhanden *) oder fehlend. Samenanlage 1, hängend, mit aufwärts gerichteter Mikropyle. Frucht eine einsamige Beere oder Steinfrucht *), teilweise oder vollständig von der vergrößerten, fleischigen oder holzigen Blütenachse (Cupula) eingeschlossen, oder Frucht durch Abfallen des Achsenbechers völlig frei.

Pollen ohne Austrittsöffnungen, Endosperm im reifen Samen fehlend, Bäume oder Sträucher. Blätter spiralig angeordnet, ungeteilt, selten gelappt, ohne Stipeln. Blüten klein, in axillären, selten terminalen, häufig rispigen Blütenständen. Knoten unilakunär, Tracheen mit einfacher, gelegentlich mit leiterförmiger Perforation *). Bei einigen Gattungen Tracheiden. Chromosomenzahl $x = 12$. Schleim- und Ölzellen.

31 Gattungen mit etwa 2250 Arten, pantropisch, typische Vertreter des Regenwaldes, überwiegend in Mittel- und Südamerika sowie Malesien, außerdem subtropisch mit Ausstrahlungen in temperierte Gebiete (9,10).

Nach ENGLER gliedert sich die Familie in zwei Unterfamilien: Lauroideae (30 Gattungen) und Cassythoideae (eine Gattung). Die Lauroideae werden unterteilt in 5 Triben (§) und 8 Subtriben (*):

- § Perseae (* Perseinae - * Beilschmiediinae)
- § Cinnamomeae (* Cinnamominae - * Anibinae)
- § Laureae (* Litseinae - * Laurinae)
- § Cryptocaryeae (* Eusideroxylinae - * Cryptocaryinae)
- § Hypodaphneae

Die Cassythoideae sind schmarotzende oder teilweise autotrophe Lianen; Verbreitungsgebiet: hauptsächlich Australien.

2.1.2. Botanische Beschreibung der Art Sassafras albidum NEES.

Die Gattung Sassafras gehört nach ENGLER zum Tribus der Cinnamomeae, Subtribus Cinnamominae. Die Gattung umfaßt zwei Arten, von denen ENGLER nur Sassafras albidum namentlich erwähnt. Als zweite Art nennt W.L.STERN (11) Sassafras tzumu, Verbreitungsgebiet: Formosa. Für den heute gebräuchlichen Artennamen Sassafras albidum NEES (12) finden sich in der Literatur vielfach die Synonyma Sassafras officinalis L. (13) und Sassafras officinale NEES (14).

Sassafras albidum NEES ist ein diözischer, 15 bis 30 m hoch werdender Baum des atlantischen Nordamerika. Die weiblichen und die männlichen Blüten stehen jeweils in achselständigen, rispigen Infloreszenzen.

Abb. 1: Sassafras albidum NEES

A fruchtender Zweig, B männliche Infloreszenz, C weibliche Infloreszenz, D männliche Einzelblüte, E weibliche Einzelblüte, F weibliche Blüte: Gynoezeum längs, G männliche Blüte: Stamina eines der beiden äußeren Kreise (links von innen, Mitte von außen gesehen) und des inneren Kreises, Anthere aufgesprungen (rechts, von innen gesehen)

A,B,C nach HAYNE

D,E,F,G nach Baillon



Abb. 1:
Sassafras albidum NEES

Blüten zyklisch, dreizählig. Tepalen 3+3; in der männlichen Blüte 9 fertile Staubblätter. Antheren dithezig, mit 4 Klappen aufspringend. Die drei Staubblätter des inneren Kreises an der Basis mit zwei seitlichen Drüsen; steriles Ovar.

Die weiblichen Blüten mit 6 Staminodien; Samenanlage subapikal, hängend. Fruchtknoten oberständig. Die Frucht ist eine im Reifezustand indigoblaue, einsamige Beere, die in ihrem unteren Teil von der vergrößerten, mennigroten Blütenachse umgeben wird.

Blätter wechselständig, lang gestielt, ganzrandig oder zweibis dreilappig. Holz ringporig. (9,11,15)

2.1.3. Chemie der Lauraceen - Inhaltsstoffe.

Die phytochemischen Untersuchungen von Lauraceen erstreckten sich bisher überwiegend auf die Nutzpflanzen der Familie. Besonders intensiv wurden die ätherischen Öle bearbeitet, die ja in den meisten Fällen für den Wert der Nutzpflanzen dieser Familie entscheidend sind (Lorbeer, Zimt, Campher, Sassafras) (16,17).

HEGNAUER (18) entnimmt den vorhandenen Arbeiten folgende Hinweise für eine chemosystematische Bewertung der ätherischen Öle:

- A) Phenylpropane und Monoterpene treten in ungefähr gleicher Häufigkeit als Hauptbestandteile der ätherischen Öle auf. Seltener treten als Hauptbestandteile Sesquiterpene auf oder Körper, die weder Phenylpropane noch Terpene sind.
- B) Es gibt zahlreiche Arten mit grundverschiedenen Ölen in verschiedenen Organen. So liefert z.B. der Zimtbaum (*Cinnamomum ceylanicum*):

Blattöl (70 - 90 % Eugenol)

Stamm- und Zweigrindenöl (65 - 75 % Zimtaldehyd)

Wurzelrindenöl (Campher)

- C) Die Ölzusammensetzung kann sehr stark vom Entwicklungszustand der Pflanze abhängig sein.

D) Chemische Rassenbildung innerhalb der Art scheint in der Familie nicht selten zu sein.

Weitergehende Schlüsse lassen sich jedoch kaum ziehen, da in vielen Fällen Unklarheit über die botanische Herkunft des Materials besteht und außerdem einige der untersuchten Öle von verschiedenen Organen oder von verschiedenen Herkünften ein und derselben Art stammen.

Innerhalb der Familie weit verbreitet und von chemosystematischer Bedeutung sind Alkaloide vom Benzylisochinolintypus. Als Beispiel sei das Laurotetanin (1) aus *Litsea cubeba* PERS. angeführt (19). Viele Lauraceen enthalten reichlich Schleim in Idioblasten (vgl. Abschnitt 2.1.1.); orientierende Beobachtungen liegen über das Vorkommen von Saponinen vor (20), ferner wurden das Triterpen Taraxerol in der Rinde von *Litsea dealbata* (21) und eine cyano-gene Verbindung in den Blättern von *Umbellularia californica* NUTT. gefunden (22). Die in den Früchten des Avocadobaumes *Persea americana* MILL. (= *Persea gratissima* GAERTN.) enthaltenen Kohlenhydrate wurden eingehend untersucht (23,24). Neben Heptiten und Octiten enthält das Fruchtfleisch auch Heptosen, Octosen und Nonosen.

Familiencharakteristisch sind die Samenfette mit Caprin- und Laurinsäure als Hauptfettsäuren (25,26,27).

HEGNAUER (18) hält es für wahrscheinlich, daß Lignane innerhalb der Familie der Lauraceen ebenso verbreitet sind wie bei anderen Vertretern der Polycarpiceae. Gefunden wurden bisher das Pseudocubebin = (+)-Sesamin (2) in der Rinde von *Ocotea usambarensis* (28), das Veraguensin (3) im Holz von *Ocotea veraguensis* (29) und das Carpanon (4) in der Rinde einer *Cinnamomum*-Art aus Bougainville (30). Auch das Eusiderin (5) aus *Eusideroxylon zwageri* (31) läßt sich aus zwei Phenylpropaneinheiten entstanden denken, stellt aufgrund seiner ungewöhnlichen Verknüpfung jedoch kein Lignan im eigentlichen Sinne dar.

Im Genus *Aniba* tritt ein Spektrum von Verbindungen auf, die HEGNAUER (18) unter biogenetischen Gesichtspunkten in 5 Gruppen einteilt:

A: Zimtsäurederivat + 2 Acetateinheiten

Stoffbeispiele: 5,6-Dehydrokawain (6)
5,6-Dehydromethysticin (7)

Bisher gefunden in: *A. firmula* MEZ
A. heringerii (32)

B: Benzoesäurederivat + 2 Acetateinheiten

Stoffbeispiele: Phenylcumalin (8), 4-Methoxyparacotoin (9)

Bisher gefunden in: *A. coto* KOSTERM., *A. duckei* KOSTERM.,
A. firmula MEZ, *A. fragrans* DUCKE,
A. pseudocoto KOSTERM., *A. rosaedora* DUCKE

C: Nicotinsäure + 2 Acetateinheiten

Stoffbeispiel: Anibin (10)

Bisher gefunden in: *A. coto* KOSTERM., *A. duckei* KOSTERM.,
A. fragrans DUCKE, *A. rosaedora* DUCKE

D: Benzoesäurederivat + 3 Acetateinheiten

Stoffbeispiel: Cotoin (11), Methylprotocotoin (12)

Bisher gefunden in: *A. coto* KOSTERM., *A. duckei* KOSTERM.,
A. pseudocoto KOSTERM.

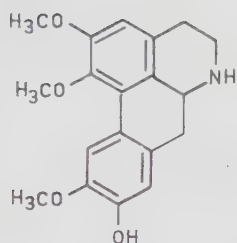
E: Zimtsäure + 3 Acetateinheiten

Stoffbeispiel: Pinocembrin (13)

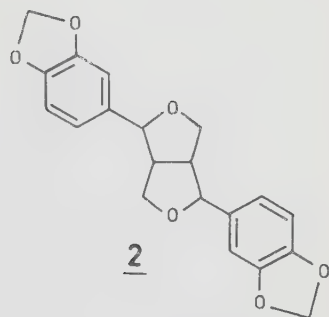
Bisher gefunden in: *A. rosaedora* DUCKE

Im ätherischen Öl von *Cryptocarya massoia* KOSTERM. wurde das Mas-soialakton (14) gefunden (33). HEGNAUER vermutet, daß das Lakton biogenetisch mit den Stoffgruppen A bis C verwandt ist.

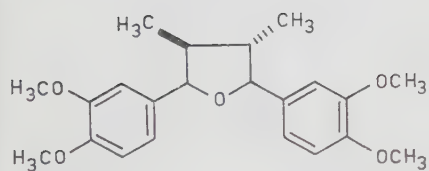
Einer Variante der Flavonsynthese (Stoffgruppe E) könnte das Linderon (15) aus *Lindera pipericarpa* BOERL. entstammen. (34)



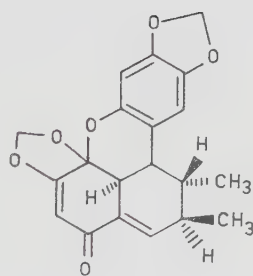
1



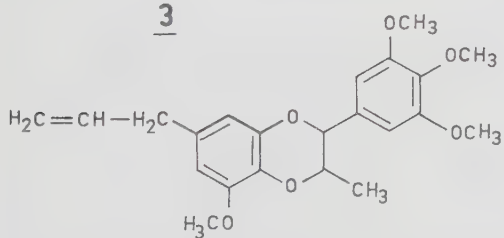
2



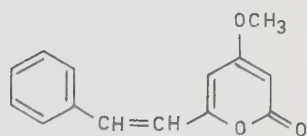
3



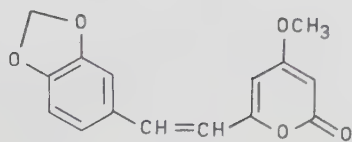
4



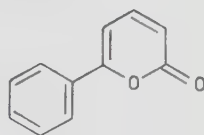
5



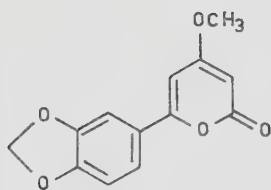
6



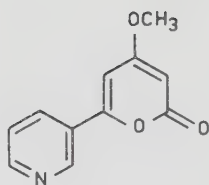
7



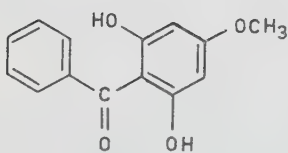
8



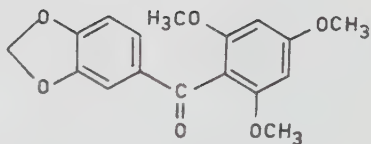
9



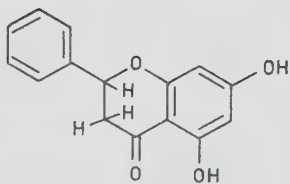
10



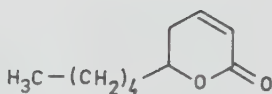
11



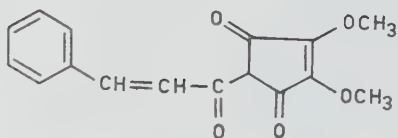
12



13



14



15

2.1.4. Vergleichende Phytochemie der Lauraceen und Piperaceen.

Vergleicht man die aufgeführten Verbindungen mit den bisher bekannten Sekundärstoffwechselprodukten der Piperaceen (35), so fällt auf, daß vor allem der Zimtsäurestoffwechsel der beiden Familien in ähnlichen Bahnen zu verlaufen scheint:

Phenylpropane sind in ätherischen Ölen verbreitet, Lignane und Kawa-Pyrone treten mehrfach auf; flavonoide Verbindungen dagegen sind selten.

Methylendioxysubstitution der aromatischen Ringe der Zimtsäurederivate ist in beiden Familien häufig (Apiol, Safrol, Sesamin, Methysticin).

2.2. Die Droge: Lignum Sassafras.

2.2.1. Geschichtliches.

Bei den französischen Kolonisationsversuchen in Florida (1562 und 1564) wurden die Kapitäne RIBAUT und LAUDONNIERE auf die Droge aufmerksam, weil sie von den Eingeborenen als Fiebermittel gebraucht wurde. Die Spanier, die 1565 die Franzosen aus Florida verdrängten, bestätigten diese Wirkung und brachten die Droge nach Europa. Der in Sevilla ansässige Arzt MONARDES nahm Sassafraswurzelholz und -rinde in seinen Arzneidroge-katalog auf (36).

Ende des 16. Jahrhunderts wurde die Droge auch in Deutschland unter dem Namen Lignum pavanum, Lignum floridum und Lignum Xylomarathrum (Fenchelholz) bekannt (37). Um 1610 wurden in England Kulturversuche mit Sassafrassämlingen unternommen (38). Die Taxe der Stadt Frankfurt a.M. vom Jahre 1587 führte unter den destillierten Ölen schon das Oleum Ligni Sassafras.

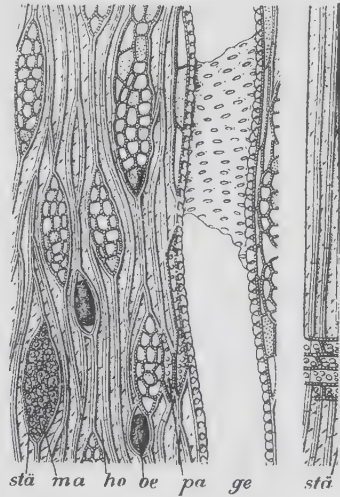
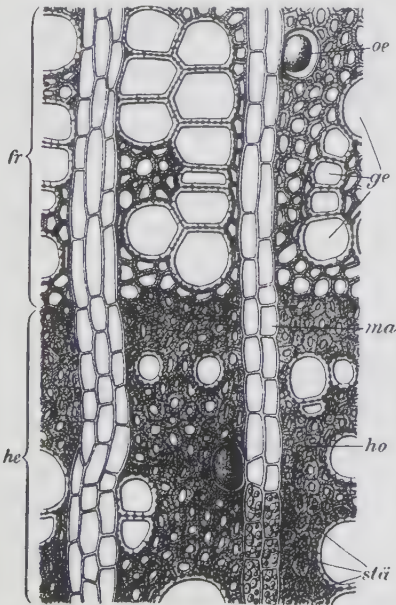
Sassafraswurzelholz wurde Ende des 19. und in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts teils in geschälter, teils in ungeschälter Form in zahlreiche Pharmacopoeen aufgenommen. Das Deutsche Arzneibuch, 6. Ausgabe, schrieb als Droge das rindenfreie Wurzelholz vor. Es diente zur Bereitung der Species Lignorum DAB 6 und der Sassafrastinktur Erg.B.6.

2.2.2. Anatomisch-morphologische Beschreibung.

Im Querschnitt des Holzes fallen die 1 bis 4, meist 2 Zellen breiten Markstrahlen auf, die radial gestreckte und stark getüpfelte Zellen mit bräunlichem Zellinhalt besitzen. Die Holzstrahlen bestehen aus schwach verdickten, nicht sehr langen Li-briformfasern mit spärlichen Spaltentüpfeln und Ersatzfasern. Die Gefäße sind meist zu Gruppen vereinigt und lassen deutlich hofgetüpfelte Trennungswände erkennen und sind zuweilen von Thyllen mit rötlichbraunem Inhalt ausgefüllt.

Die Gefäße sind meist von dünnwandigem, getüpfeltem Parenchym umgeben oder grenzen zumindest teilweise an dieses. Das Lumen der Prosenchymzellen und der Fasern ist beim Herbstholz klein, beim Frühjahrsholz größer. Es finden sich ferner Ölzellen am ganzen Querschnitt verteilt, die sich durch ihre geringe Größe und Wanddicke und durch das Fehlen der getüpfelten Wände und dadurch von den Gefäßen unterscheiden, daß jene meist von Libriformfasern und nicht von getüpfelten Zellen umgeben sind. Die jeweils obersten Zellreihen der bis zu 40 Zellen hohen Markstrahlen sind häufig in Ölzellen umgewandelt. In den Holzparenchymzellen und Ersatzfasern können sich kleine, einfache oder zusammengesetzte Stärkekörner finden.

Die geschnittene Droge ist an den unregelmäßigen Stücken von graubrauner bis rötlichbrauner Farbe und an dem typischen Fenchelgeruch zu erkennen (39).



oben: Abb. 3:

links: Abb. 2:

Lignum Sassafras: Querschnitt (Abb. 2) und tangentialer Längsschnitt (Abb. 3).
he Herbstholz, fr Frühjahrsholz, oe Ölzellen, ge Gefäße, ma Markstrahlen, ho Ersatzfasern, stä Stärkekörner, pa Holzparenchym (GILG).

2.2.3. Bisher beschriebene Inhaltsstoffe der Droge.

Die vorliegenden Untersuchungen erstrecken sich ausschließlich auf das ätherische Öl der Droge.

Das Öl wird durch Wasserdampfdestillation aus der zerkleinerten, ungeschälten Wurzel gewonnen. Die Wurzelrinde enthält 6 - 9 %, das Wurzelholz etwas weniger als 1 % Öl. Die Gesamtausbeute bei Verarbeitung ungeschälter Wurzeln liegt zwischen 1,5 und 2 % (40).

Eine qualitative und quantitative Untersuchung eines solchen Öles wurde von POWER und KLEBER (41) durchgeführt. Allerdings wurde nicht geprüft, ob sich die ätherischen Öle von Wurzelholz und Wurzelrinde in ihrer Zusammensetzung unterscheiden. Als Bestandteile werden angegeben:

80 % Safrol, 10 % -Pinen und Phellandren, 6,8 % d-Campher, 0,5 % Eugenol, 3 % hochsiedende Bestandteile, ein Sesquiterpen und Rückstand.

Physikalische und chemische Eigenschaften des Öls nach GILDEMEISTER und HOFFMANN (17): $d_{15} = 1,070$ bis $1,080$, $\alpha_D = +2$ bis $+4$, n_D^{20} um $1,530$, S.Z. bis 1 , E.Z. $0,5$ bis 5 .

In jedem Verhältnis in 95%igem Alkohol und in 1 bis 2 Vol. 90%igem Alkohol löslich.

2.2.4. Verwendung der Droge.

Die Eingeborenen des östlichen Nordamerika verwandten die Sassafraswurzel nicht nur als Heilmittel, sondern wegen ihres angenehmen Aromas auch als Gewürz, Tabakzusatz und Kaumittel. Besonders die Wurzelrinde war unter dem Namen "Pavame" in Gebrauch (42).

KALM (43) erwähnt, daß Rinde und Holz zur Aromatisierung von Wurzelbier und Branntwein allgemein gebraucht wurden. In die europäische Medizin wurde Lignum Sassafras wie Lignum Guajaci zunächst als Antisyphiliticum eingeführt. Später wurde die Droge wegen ihrer diuretischen und schweißtreibenden Wirkung als "Blutreinigungsmittel" (z.B. in Species Lignorum) gebräuchlich. Ferner Verwendung bei Katarrhen, Rheumatismus und Hautausschlägen (44). Nach Angaben des United States Dispensatory (1950, 1011) soll Sassafrasöl die Schleimhäute weniger reizen als einige andere flüchtige Öle. Es könne daher z.B. als Desinfektionsmittel in der Zahnheilkunde dienen.

Heute wird Sassafrasöl hauptsächlich in der Genußmittel- und Duftstoff-Industrie gebraucht. Das Öl schmeckt aromatisch und leicht adstringierend, und ist Bestandteil und typische Geruchskomponente einiger der bekanntesten amerikanischen soft-drinks (z.B. root beer). Einige Bonbon- und Kaugummisorten werden mit Sassafrasöl aromatisiert, desgleichen halbpharmazeutische Artikel wie Zahnpasten und Mundwässer. Schließlich wird das Öl zur Parfümierung von Seifen verwandt (16).

2.3. Allgemeines über Lignane.

2.3.1. Definition und Biosynthese.

Der Begriff "Lignan" wurde von R.D.HAWORTH (45) im Jahre 1936 in die Literatur eingeführt. Er wird angewandt auf eine Gruppe optisch aktiver Pflanzenstoffe, die das 2,3-Dibenzylbutan-Skelett (16) enthalten. ERDTMAN (46) und HAWORTH (47) hielten die Entstehung der Lignane aus zwei C_6-C_3 - Einheiten durch Verknüpfung der β -Kohlenstoffatome der Seitenketten für wahrscheinlich. B.L.VANZETTI (48) vermutete, daß Lignane ein Zwischenprodukt in der Biosynthese des Holzes darstellten. Unter normalen Wachstumsbedingungen solle Holz gebildet werden, während unter pathologischen Bedingungen lignanhaltige Harze auftreten sollten. Auch HAWORTH (49) nahm eine enge Verwandtschaft zwischen Lignanen und dem Lignin an.

FREUDENBERG (50) fand, daß bei der Herstellung synthetischen Coniferenlignins aus Coniferylalkohol (17) mit Dehydrogenase in gleicher Lösung d,l - Pinoresinol (18) entsteht. In der FREUDENBERG'schen Ligninformel (Abb. 4) (51) ist das Pinoresinolmolekül leicht zu entdecken. Da aber sowohl das natürliche Lignin wie auch die bei der Ligninsynthese nach (50) anfallenden Dimeren des Coniferylalkohols optisch inaktiv sind, können die optisch aktiven Lignane nicht als Zwischenstufen der Ligninbiosynthese aufgefaßt werden. LUCKNER (52) folgert, daß die Bildung der Lignane aus Phenylpropanen im Gegensatz zur Ligninbiosynthese, an der radikalische Mechanismen beteiligt sind, rein enzymatisch und wahrscheinlich reduktiv verläuft, zumal bisher keine optisch aktiven höheren Polymeren gefunden wurden. Die Phenylpropanbausteine selbst fallen aus dem Shikimisäureweg an (53): Chorisminsäure wird über Prephensäure, Phenylbrenztraubensäure, Phenylalanin und verschiedenartig hydroxylierte Zimtsäuren in die entsprechenden Zimtalkohole überführt.

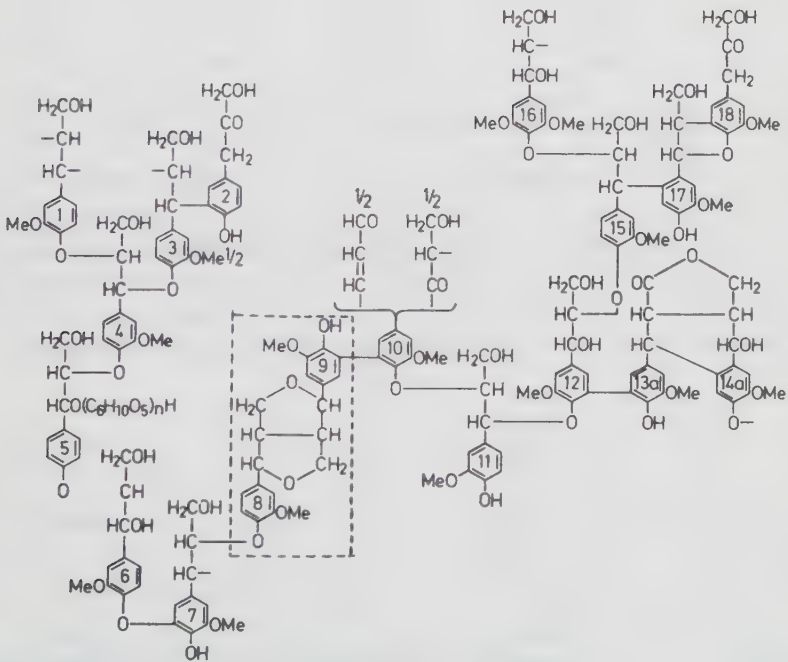
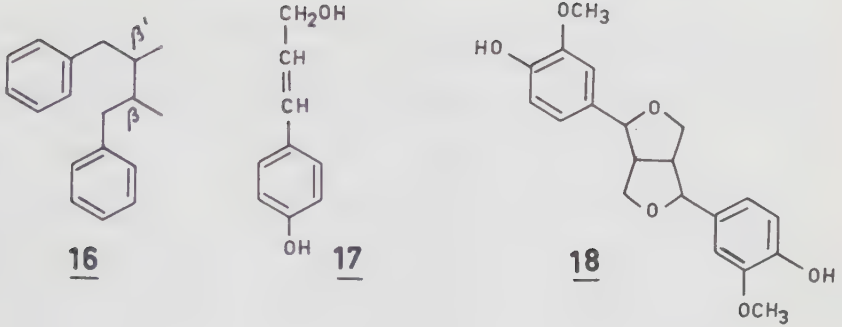
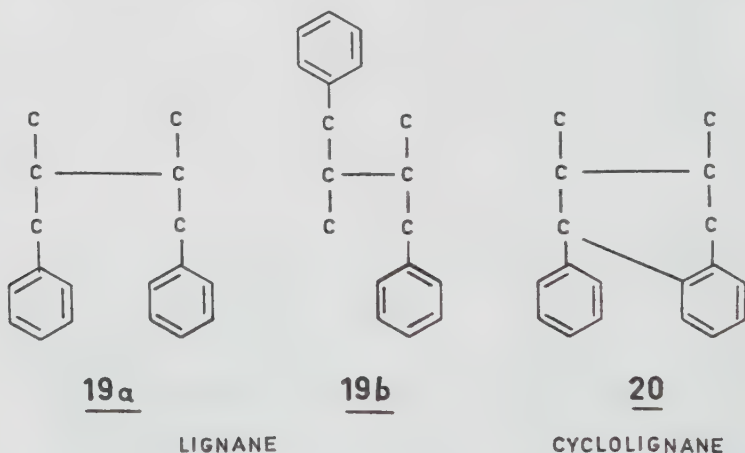


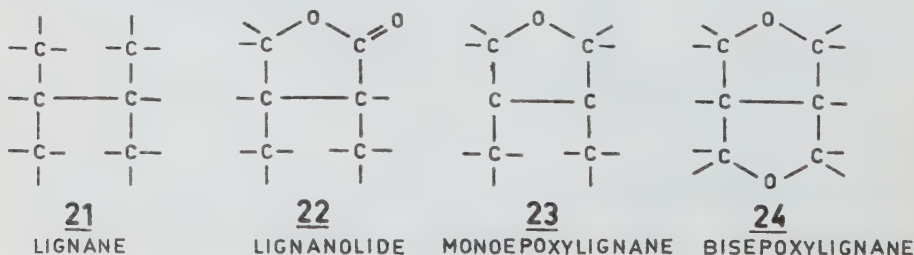
Abb. 4: Schema des Fichtenlinpins. Das Pinoresinolmolekül ist gestrichelt umrahmt (nach FREUDENBERG und REISH 1968).

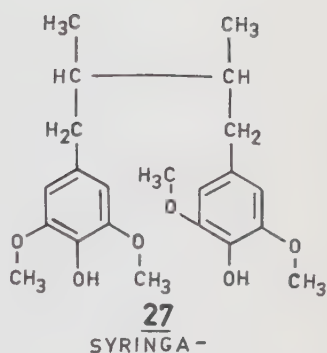
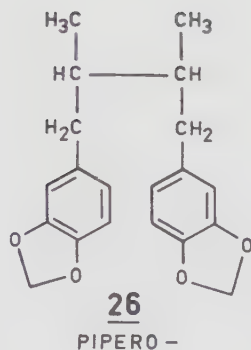
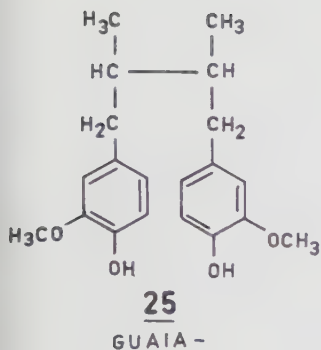
2.3.2. Gliederung der Lignane nach Strukturtypen.

FREUDENBERG und WEINGES (54) schlagen vor, die Lignane in zwei Klassen zu unterteilen:
Lignane im engeren Sinne (19 a), (19 b) und Cyclolignane (20).



Die Klassen (19 a), (19 b) und (20) können in die vier Hauptstrukturgruppen (21), (22), (23) und (24) gegliedert werden und diese wiederum - je nach Art der Sauerstoff-Substitution der Benzolringe - in die drei Untergruppen (25), (26) und (27).





In der Klasse der Cyclolignane können natürlich nur die Strukturgruppen (21), (22) und (23) auftreten.

Mit den für (19) - (27) gewählten Bezeichnungen läßt sich eine systematische Nomenklatur bilden, der zufolge z. B. das Pinore-sinol (18) als Guaiabisepoxy lignan bezeichnet werden kann.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Hauptteil

3.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Hauptteil.

3.1.1. Analytische und präparative Chromatographie der lipophilen Inhaltsstoffe aus Lignum Sassafras.

Für die Dc-Analyse lipophiler Verbindungen vom Kawalacton-Typ hatte sich das Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 1/1 = v/v als geeignet erwiesen (55). Das gleiche Laufmittel wurde in leicht verändertem Mischungsverhältnis (Cyclohexan/Essigester = 1/2 = v/v = Laufmittel A) für die DC des Methylenchlorid-extraktes von Lignum Sassafras verwandt. Durch Ansprühen mit einer Lösung von 5 T. Anisaldehyd und 5 T. Phosphorsäure in 90 T. Äthanol (Sprühreagenz AP) und nachfolgendes Erhitzen ließen sich fünf gut begrenzte Flecke sichtbar machen. Die fünf Flecke wurden mit den Arbeitsbezeichnungen Sass 1 - Sass 5 belegt. Das Aussehen des Chromatogramms ist in Tabelle 1 beschrieben. Bei Verwendung von Laufmittel B = Benzol/Aceton = 98/2 = v/v können die Substanzen Sass 3 und Sass 5 weiter voneinander getrennt werden.

Arbeitsbezeichnung	Rf x 100 Laufm. A	Farbreaktion mit Sprühreagenz AP	Rf x 100 Laufm. B
Sass 1	46	braungelb	26
Sass 2	36	braungelb	
Sass 3	44	blau	
Sass 4	10	gelb	11
Sass 5	42	blauviolett	

Tabelle 1: Dc-Prüfung des Methylenchloridextraktes und Nachweis der Verbindungen Sass 1 - Sass 5 auf DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄ Merck

Zur Isolierung der fünf Substanzen wurden die Bedingungen der analytischen DC auf die präparative Säulenchromatographie übertragen. Wie im Versuchsteil näher beschrieben, wurde der Methylenchloridextrakt der Droge zunächst mit Kieselgel "Woelm" als Adsorbens und Cyclohexan/Essigester = 1/1 = v/v als Laufmittel fraktioniert. Nach mehreren Trennungsschritten gelang es, die Substanzen Sass 1, 2, 3, 4 und 5 in kristalliner Form zu erhalten.

Tabelle 2 faßt die Ausbeuten in % der luftgetrockneten Droge, die Schmelzpunkte und das Verhalten der Substanzen gegen konzentrierte Schwefelsäure zusammen.

Arbeitsbezeichnung	Ausbeute in % d. lufttr. Droge	Schmp.	Farbreaktion mit konz. H_2SO_4
Sass 1	0,061	124 - 125°	braunrot, nach 5 min schmutzig-violett
Sass 2	0,048	75°	braun, nach 5 min braunrot
Sass 3	0,005	84 - 85°	gelb-orange, nach 5 min grün-gelb, nach 30 min blau
Sass 4	0,008	79°	braunrot, nach 60 min braun
Sass 5	0,006	136 - 138°	verkohlt, untypisch

Tabelle 2

3.1.2. Zwei Lignane aus Lignum Sassafras.

3.1.2.1. Isolierung der Verbindung Sass 1.

Die Verbindungen Sass 1, Sass 3 und Sass 5 wurden zunächst gemeinsam von den lipophileren (z.B. den Komponenten des ätherischen Öles) wie von den hydrophileren Inhaltsstoffen (Sass 2 und Sass 4) durch präparative Säulenchromatographie mit dem Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 1/1 = v/v getrennt. Durch erneute Säulenchromatographie mit stärker lipophilem Laufmittel (Cyclohexan/Essigester = 10/1 = v/v) wurde Substanz Sass 1 von Sass 3 und Sass 5, die sich noch in einer Fraktion befanden, getrennt. Durch Einengen der Sass 1 - haltigen Fraktion und Umkristallisation des Rückstandes aus Methanol/Wasser (9/1) konnte die Verbindung rein in Form derber farbloser Nadeln erhalten werden. Ausbeute 3,1 g.

3.1.2.2. Identifizierung der Verbindung Sass 1.

3.1.2.2.1. Spektroskopische Methoden.

Angefertigt wurden das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum.

Aus dem Ergebnis der Elementaranalyse (Gef.: C 67,6 % H 5,0 %) läßt sich die Summenformel $C_{20}H_{18}O_6$ (354,3) ableiten. Das Molekulargewicht wird durch das Massenspektrum bestätigt (m/e 354) (Abb.5).

Berechneter CH-Wert für die Summenformel $C_{20}H_{18}O_6$: C 67,8 % H 5,1 %.

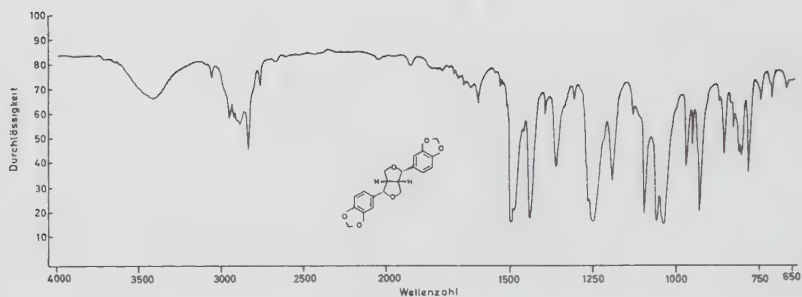


Abb. 7:
IR-Spektrum der Verbindung Sass 1 (KBr Preßling)

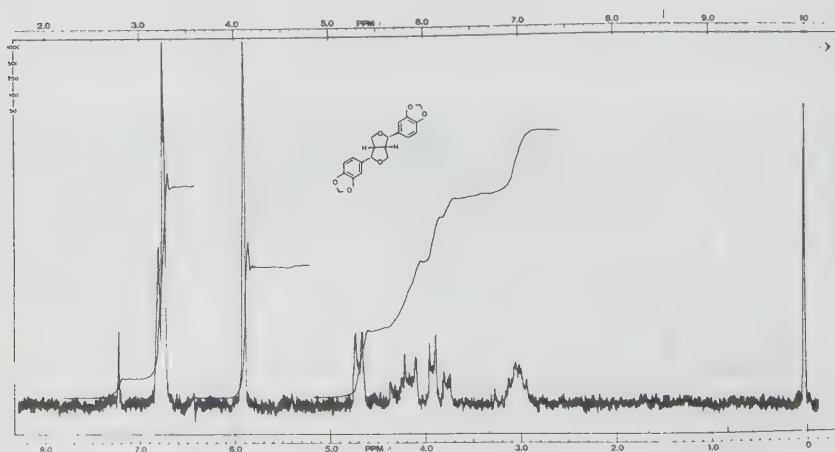


Abb. 8:
NMR-Spektrum der Verbindung Sass 1 (in CDCl_3)

Nach Literaturstelle (56) errechnen sich für Sass 1
 $R = 12$ Doppelbindungsäquivalente.

Im UV-Spektrum (Abb.6) zeigt die Substanz zwei Maxima bei $\lambda_{\max} = 236 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8820$) und $\lambda_{\max} = 287 \text{ nm}$ ($\epsilon = 8120$), die bereits eine aromatische Verbindung vermuten lassen. Auch im IR-Spektrum (Abb.7) finden sich die für aromatische Strukturen typischen Absorptionsbanden: CH-Valenzschwingungen bei 3030 cm^{-1} , Skelettschwingungen bei 1600 cm^{-1} und 1500 cm^{-1} und im fingerprint-Bereich "out-of-plane"-Schwingungen bei 875 cm^{-1} und zwischen 860 und 800 cm^{-1} . Ferner weisen die charakteristischen Banden bei 2770 , 925 und 718 cm^{-1} auf das Vorhandensein mindestens einer Dioxymethylengruppe hin. Weiterführende Daten können aus dem NMR-Spektrum (Abb.8) entnommen werden: Die Verbindung Sass 1 enthält 6 aromatische Protonen ($3,1 - 3,3 \text{ ppm, m}$), 4 Protonen aus 2 am Aromaten ständigen Dioxymethylengruppen ($4,1 \text{ ppm, s}$) und 8 Protonen, die Multipletts zwischen $5,2$ und $6,95 \text{ ppm}$ ergeben. Die NMR-Signale der 6 aromatischen Protonen liegen sehr dicht beieinander und sind so wenig aufgespalten, daß anzunehmen ist, daß die aromatischen Ringe sich im Substitutionsmuster nicht unterscheiden. Die Signale im Bereich von $5,2 - 6,95 \text{ ppm}$ lassen sich eindeutig in vier Signalgruppen unterteilen, die gemäß Integration jeweils 2 Protonen entsprechen. Das Molekül muß folglich in hohem Maße symmetrisch gebaut sein. Ein Protonen-Austausch in D_2O findet nicht statt.

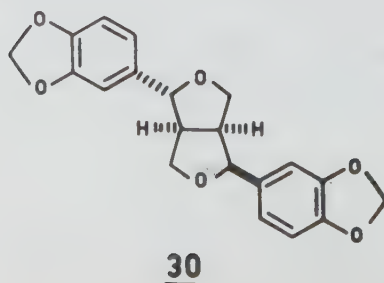
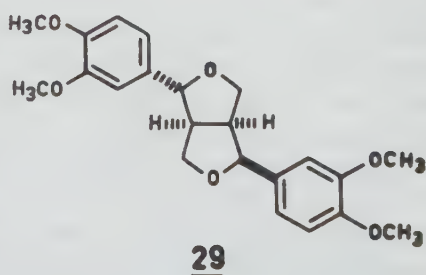
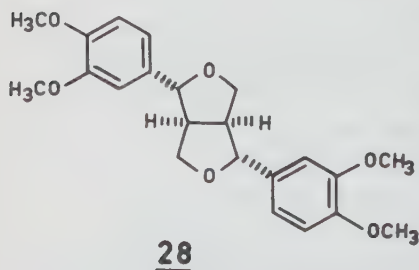
Im IR-Spektrum fehlen Carbonylbanden; die starke Bande bei 1090 cm^{-1} (C-O-Valenzschwingung) läßt vielmehr vermuten, daß auch die beiden O-Atome, die nicht an den Dioxymethylengruppen beteiligt sind, in ätherartiger Bindung - nicht jedoch als Phenol- oder Enoläther - vorliegen.

Die bisherige Diskussion der Spektren und das Ergebnis der Elementaranalyse lassen folgende Schlüsse zu:

- 1) Die Substanz enthält zwei benzolische Ringe.
- 2) Die beiden Ringe sind in gleicher Weise substituiert, und zwar jeweils durch eine Dioxymethylengruppe und durch einen nichtaromatischen Rest.
- 3) Der nichtaromatische Rest enthält 6 C-, 8 H- und 2 O-Atome; die O-Atome müssen ätherartig gebunden sein.
- 4) Die Zahl von nur 8 H-Atomen läßt darauf schließen, daß im nichtaromatischen Rest doppelter Ringschluß vorliegt, da sich nach (56) zwei Doppelbindungsäquivalente errechnen, ohne daß mit spektroskopischen Methoden Doppelbindungen außerhalb der Aromaten nachweisbar wären.

Demnach könnte die Verbindung Sass 1 ein Diphenylpropan vom Typus der Piperobisepoxylignane sein (vgl. Abschn. 2.3.2.).

A. PELTER (57) fand, daß das Kohlenstoffskelett der Lignane an einigen typischen Fragmentierungen im Massenspektrum zu identifizieren ist. Aus der Gruppe der Bisepoxylignane untersuchte er das Di-O-methylpinoresinol (28), das Epieudesmin (29) und das Asarinin (30).



Di-O-methylpinoresinol (28) und Epieudesmin (29) liefern Massenspektren, die sich nur in den Intensitäten leicht unterscheiden. Das Spektrum von Asarinin (30) ist dem von (28) bzw. (29) sehr ähnlich. Unterschiede ergeben sich lediglich aus der Substitution des Aromaten, während für alle drei Verbindungen das gleiche Fraktionierungsschema aufgestellt werden kann:

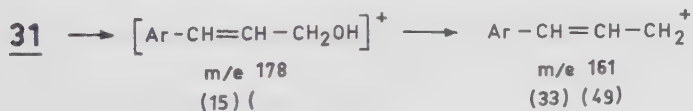
Der Zerfall des Moleküls beginnt entweder unmittelbar auf dem Weg I oder erst nach vorheriger Umlagerung des Moleküls in die Formen (31) bzw. (32) auf dem Wege II (Schema 1, Ar = 3,4 Methylendioxyphenyl).

Die Aufspaltung von (31) auf den Wegen (a), (b) und (c) führt zu mehreren hervorstechenden Ionen (Schema 2). Die relativen Intensitäten für Asarinin und Sass I sind in dieser Reihenfolge hinter den m/e - Werten in Klammern () angegeben.

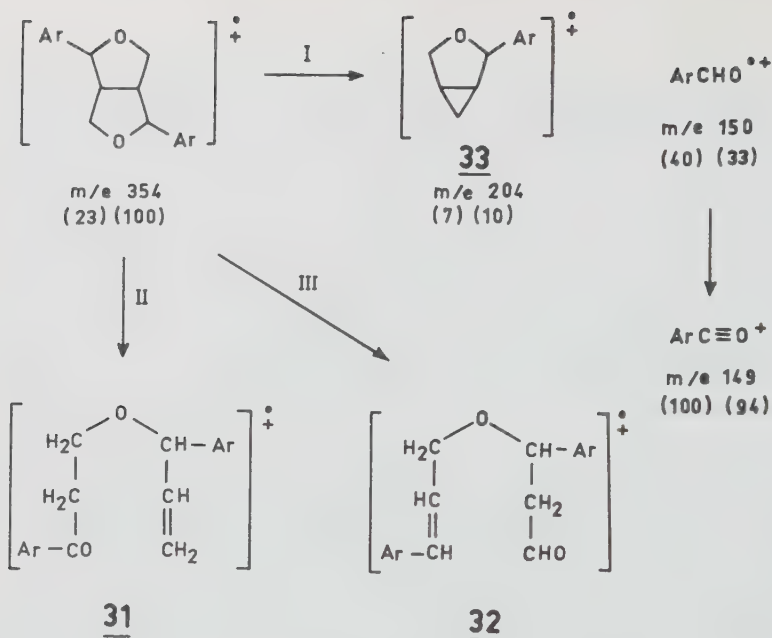
Der Verlust einer Masseneinheit aus dem Molekülion läßt sich vielleicht aus Form (32) erklären, und m/e 132 (3)(4), $\text{Ar} \cdot \text{CH}_2^+$, könnte von diesem M-1-Typ abstammen.

Der metastabile Peak bei 89,5 deutet darauf hin, daß das Ion m/e 178 (15)(15) direkt aus dem Molekülion (31) entsteht.

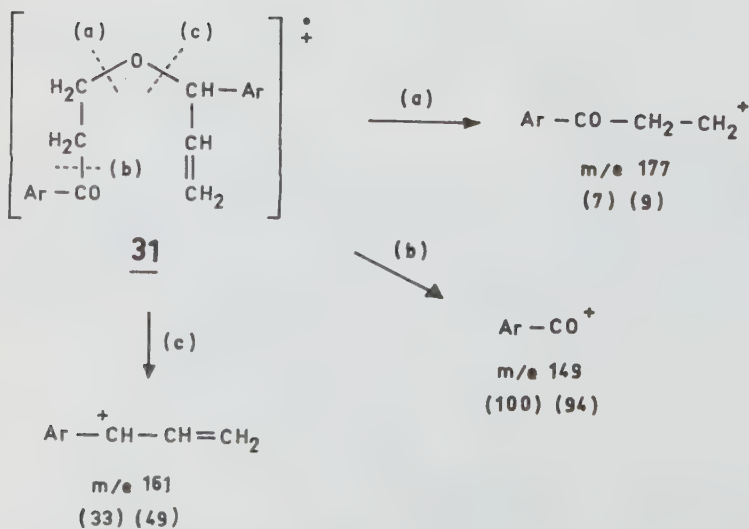
m/e 178 fragmentiert weiter zu m/e 161 (33)(49):



Von Bedeutung ist ferner die Entstehung des Ions $\text{Ar} \cdot \text{CH}_2^+$ (m/e 135 (60)(40), das sich ebenfalls direkt aus dem Molekülion bildet. Wie auch bei den einfacheren Lignanien tritt das Ion ArH^+ bei m/e 122 (30)(25) kräftig hervor. Das Ion m/e 131 (26)(26) entsteht durch Verlust von Formaldehyd aus m/e 161.



Schema 1



Schema 2

Der auffällige Peak bei m/e 203 (23)(24) läßt sich dem Ion (34) zuordnen, für das folgende Resonanzstruktur formuliert werden kann:

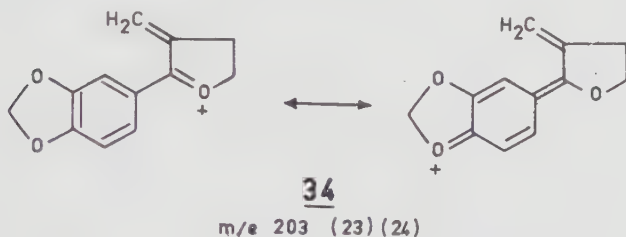


Tabelle 3 zeigt, daß die Massenspektren von Asarinin und Sass 1 in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen. Damit steht fest, daß es sich bei Substanz Sass 1 um ein Piperobisepoxylignan handelt.

	Asarinin (30)	Sass 1 = (+)-Sesamin	Di-O-Methyl- pinoresinol (28)	Sass 2 = Desmethoxy- aschantin
388	-	-	4	-
387	-	-	23	-
386	-	-	100	-
385	-	-	4	-
372	-	-	-	2
371	-	-	4	22
370	-	-	13	100
369	-	-	-	3
356	-	2	2	1
355	5	20	-	1
354	23	100	-	-
353	1	5	-	-

Tabelle 3 (Anfang)

	Asarinin (30)	Sass 1 = (+)-Sesamin	Di-O-Methyl- pinoresinol (28)	Sass 2 = Desmethoxy- aschantin
339	-	-	-	8
324	-	3	-	-
323	3	7	-	-
321	1	-	-	-
271	-	-	-	1
235	-	-	3	2
221	-	-	1	1
220	-	-	6	3
219	2	4	16	9
206	-	-	1	1
205	1	1	8	5
204	7	10	2	8
203	23	24	4	15
202	2	-	1	1
195	-	-	2	1
194	1	1	11	7
193	-	-	6	3
192	-	-	4	3
191	-	-	6	3
190	-	-	2	2
189	2	7	12	9
188	6	2	-	2
187	2	3	-	2
186	2	1	-	2
185	-	-	-	7
180	-	-	2	1
179	2	2	7	4
178	15	15	11	11
177	7	9	65	40
176	5	5	5	5
175	5	5	3	4
174	3	4	1	2

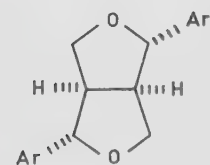
Tabelle 3 (Fortsetzung)

	Asarinin (30)	Sass 1 = (+)-Sesamin	Di-O-Methyl- pinoresinol (28)	Sass 2 = Desmethoxy- aschantin
173	3	3	-	2
167	-	-	7	4
166	-	-	30	19
165	1	-	60	37
164	2	1	16	10
163	6	6	1	3
162	8	10	1	5
161	33	49	4	26
160	6	6	2	2
159	2	2	3	2
152	1	1	7	4
151	-	6	50	20
150	40	33	2	15
149	100	94	8	43
148	15	22	-	7
147	3	2	3	2
146	2	2	6	4
145	4	4	2	3
139	-	-	3	4
138	-	-	14	8
137	1	1	5	2
136	11	8	3	4
135	60	40	19	30
134	4	4	1	1
133	5	4	3	2
132	3	4	3	1
131	26	26	7	14
124	-	-	4	1
123	4	2	5	3
122	30	25	5	10
121	14	10	7	6
120	2	2	-	2

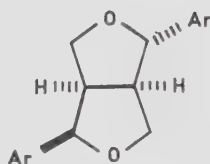
Tabelle 3

3.1.2.2.2. Relative und absolute Konfiguration von Sass 1.

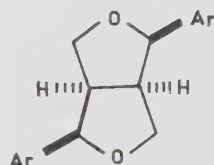
Bisepoxylignane sind Verbindungen mit einem starren Ringsystem, das vier Assymetriezentren aufweist (35), (36), (37).



35
SESAMINREIHE



36
EPI-REIHE



37
DIA-REIHE

Die an den Assymetriezentren C-1 und C-5 stehenden H-Atome müssen allerdings cis-ständig angeordnet sein, weil sonst ein doppelter Ringschluß nicht möglich ist. Die Phenylringe können beide äquatorial (35, Sesaminreihe) oder beide axial (37, Dia-Reihe) angeordnet sein, oder es kann ein Ring axial und der andere äquatorial stehen (36, Epi-Reihe).

Im Zusammenhang mit Untersuchungen der Stereochemie einiger natürlich vorkommender Bisepoxylignane, insbesondere des Neogmelinols (58), des Diaeudesmins (59) und des Sesangolins (58,60), wurden empirische Regeln zur Ermittlung von Konfigurationsbeziehungen aus NMR-Daten gefunden.

Es zeigte sich, daß die räumliche Anordnung des in der freien Rotation behinderten Phenyls am C-2 bzw. am C-6 die chemische Verschiebung der Protonen am C-4 bzw. am C-8 beeinflußt: Die Signale der Methylenprotonen sind gegenüber der "normalen" Lage bei 6,0 - 6,2 ppm nach tieferem Feld verschoben bei Beeinflussung durch einen äquatorial stehenden Phenylrest, nach höherem Feld unter dem Einfluß eines axialständigen Aryls. Die bisherigen Beobachtungen führen zu folgender Korrelationstabelle:

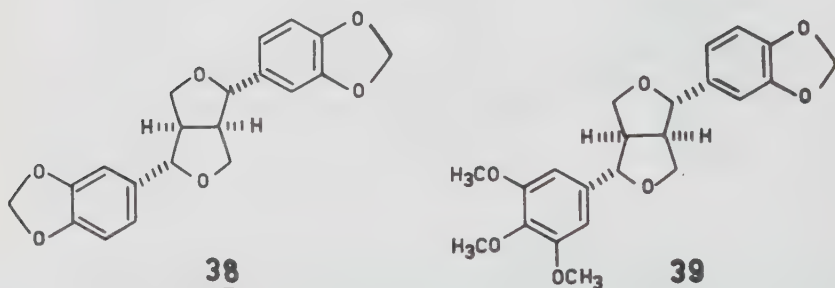
Reihe	Methylenprotonen
Sesaminreihe (diäquatorial)	2 H 6,0 ppm
Epi-Reihe (äquatorial-axial)	1 H 5,6-5,9 ppm 1 H 6,55-6,75 ppm
Dia-Reihe (diaxial)	2 H 6,35 ppm

Tabelle 4 (Korrelationstabelle)

Sass 1	(+)-Sesamin	Sass 2
H-1 6,95 ppm m H-5	6,9 ppm m	6,85 ppm m
H-2 5,3 ppm d H-6	5,25 ppm d	5,25 ppm d
H-4 5,6-5,9 ppm m 2 H H-8 6,0-6,2 ppm m 2 H	5,55-5,85 ppm m 2 H 5,95-6,2 ppm m 2 H	5,6-5,8 ppm m 2 H 6,0-6,2 ppm m 2 H

Tabelle 5

HÄNSEL und PELTER (61) konnten diese Regeln bereits zur Bestimmung der Konfiguration des Yangambins und des Aschantins (39) anwenden. Tabelle 5 zeigt die entscheidenden NMR-Signale der Verbindung Sass 1 und des (+)-Sesamins (38), dessen relative und absolute Konfiguration bekannt ist.



Ganz offensichtlich gehört Sass 1 wie das (+)-Sesamin der diäquatorialen Reihe an. Unter Anwendung des Verschiebungsgesetzes der optischen Drehung (62) läßt sich jetzt die absolute Konfiguration ermitteln: Sass 1 weist eine spezifische Drehung von $\alpha_{20}^D = + 66,2$ auf und muß also identisch mit (+)-Sesamin sein.

3.1.2.2.3. Mischschmelzpunkt, Dc-Vergleich, IR-Überlagerungsspektrum und Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure.

Zur Absicherung der in 3.1.2.2.2. erhaltenen Ergebnisse wurde

- 1) der Mischschmelzpunkt von Sass 1 mit authentischem (+)-Sesamin bestimmt,

- 2) Dc-Vergleich von Sass 1 mit authentischem (+)-Sesamin durchgeführt,
- 3) ein IR-Überlagerungsspektrum von Sass 1 und authentischem (+)-Sesamin aufgenommen und
- 4) das Verhalten von Sass 1 und authentischem (+)-Sesamin gegen konz. H_2SO_4 verglichen.

Der Mischschmelzpunkt zeigte keine Depression und im Dc-Vergleich ließen sich keine Unterschiede zwischen den Substanzen feststellen. Das IR-Überlagerungsspektrum (Abb.9) zeigt Übereinstimmung in allen Einzelheiten. Auch gegen konz. H_2SO_4 verhalten sich beide Substanzen gleich (s. Tabelle 2). Die Identität von Sass 1 mit (+)-Sesamin ist erwiesen.

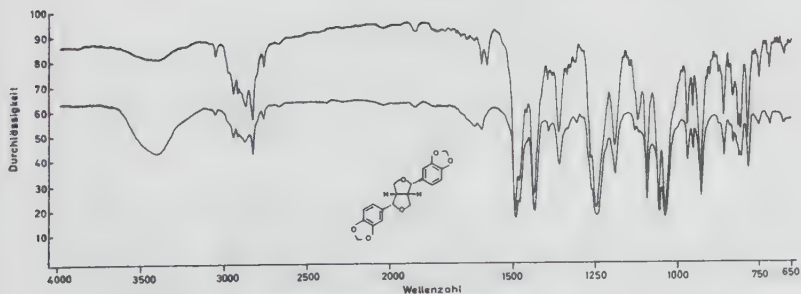


Abb. 9:

IR-Überlagerungsspektrum von Sass 1 (oberes Spektrum) und authentischem Sesamin (unteres Spektrum) (KBr Preßling)

3.1.2.3. Isolierung der Verbindung Sass 2.

Schon durch den ersten Trennungsschritt (Säulenchromatographie mit dem Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 1/1 = v/v, s. Versuchsteil) konnte aus dem Rohextrakt eine Fraktion gewonnen werden, die neben Sass 2 nur noch unwesentliche Mengen begleitender Substanzen enthielt. Durch erneute Säulenchromatographie mit Benzol/Aceton = 8/2 = v/v wurde Sass 2 in chromatographisch reiner Form erhalten und konnte aus Cyclohexan/Aceton (19/1) kristallisiert werden. Weiße Nadeln, Ausbeute 2,4 g.

3.1.2.4. Charakterisierung der Verbindung Sass 2.

3.1.2.4.1. Spektroskopische Methoden.

Zur Charakterisierung von Sass 2 wurden das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum aufgenommen.

Die Elementaranalyse ergab folgende Werte: C 68,2 % H 6,1 %. Die aus diesem Ergebnis abgeleitete Summenformel $C_{21}H_{22}O_6$ (Mol.-Gew. 370,4; berechnete C-H-Werte: C 68,1 % H 6,0 %) wird gestützt durch das Massenspektrum (Abb. 10), dem ein Molekulargewicht von 370 (m/e) zu entnehmen ist.

Ein Vergleich der von Sass 2 aufgenommenen Spektren mit denen des (+)-Sesamins (= Sass 1) zeigt auffällige Ähnlichkeiten. Im UV-Bereich absorbiert Sass 2 bei $\lambda_{\max} = 232 \text{ nm}$ ($\epsilon = 13290$) und bei $\lambda_{\max} = 284 \text{ nm}$ ($\epsilon = 6800$) (Abb. 11).

Das IR-Spektrum (Abb. 12) zeigt ebenfalls alle Charakteristika einer aromatischen Verbindung vom Typ des Sesamins: CH-Valenzschwingungen bei 3020 cm^{-1} , Skelettschwingungen bei 1595 und 1490 cm^{-1} , "out-of-plane"-Schwingungen bei $860 - 820 \text{ cm}^{-1}$. Die Banden bei 2750 , 920 und 710 cm^{-1} lassen vermuten, daß auch Sass 2 mindestens eine Dioxymethylengruppe trägt.

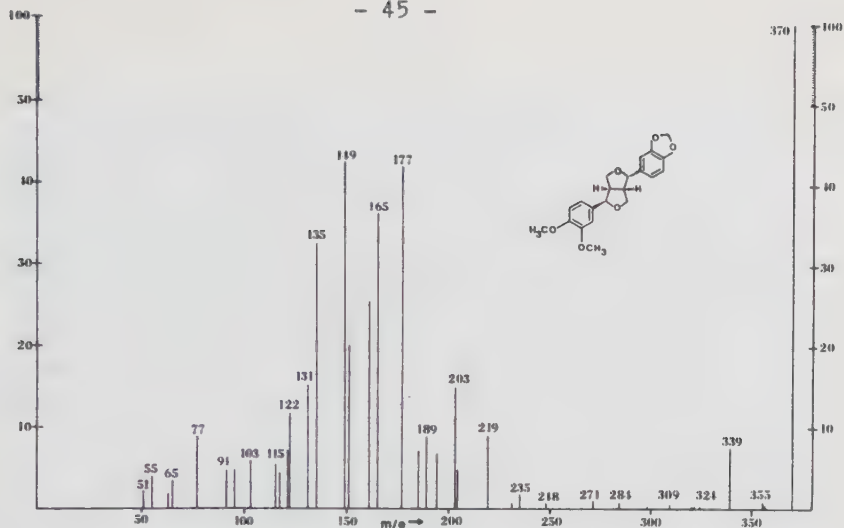


Abb. 10:

Massenspektrum der Verbindung Sass 2

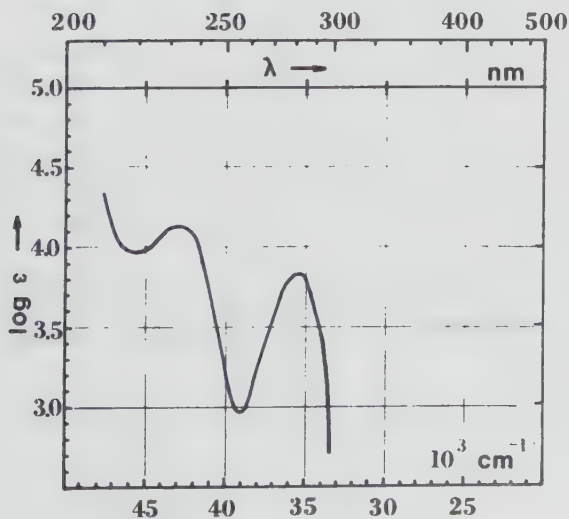


Abb. 11:

UV-Spektrum der Verbindung Sass 2 (in Methanol)

Die NMR-Spektren von Sass 1 (Abb.8) und Sass 2 (Abb.13) sind hinsichtlich der Lage und des Aufspaltungsmusters im Bereich 5,2 - 6,9 ppm praktisch identisch. Anders als bei Sass 1, das bei 4,0 ppm ein auf 4 Protonen entfallendes Singulett aufweist (2 Dioxymethylengruppen), entspricht dieses Singulett gemäß Integration bei Sass 2 nur zwei Protonen. Statt dessen finden sich bei 6,10 ppm zwei Singuletts, die den Protonen zweier Methoxylgruppen zuzuordnen sind. Das Multiplett bei 7,1 - 6,8 ppm ist in den Spektren beider Substanzen vollkommen gleichartig ausgebildet. Sass 2 könnte demnach eine Strukturvariante des (+)-Sesamins sein, die an einem der aromatischen Ringe statt der Dioxymethylengruppe zwei Methoxygruppen trägt - bzw. eine Substanz, die sich vom Aschantin (39)(63) durch das Fehlen einer Methoxylgruppe unterscheidet. Wie sich schon bei den Untersuchungen des Aschantins (61) und des Sesangolins (58,60) zeigte, geben die Protonen am C-2 und am C-6 auch dann ein einheitliches Signal, wenn ihre Umgebung wegen unterschiedlicher Substitution der Phenylringe nicht identisch ist. Die Substanz sollte im Massenspektrum dem Fragmentierungsschema folgen, das zur Identifizierung von Sass 1 herangezogen wurde (vgl. Abschn.3.1.3.2.1.).

Tabelle 3 zeigt, daß dies der Fall ist. Das Massenspektrum von Sass 2 stellt eine Kombination der Spektren des Di-O-Methylpinoresinolins (27) und des (+)-Sesamins (38) dar; wie zu erwarten ist, treten die Ionen des unsymmetrisch substituierten Lignans Sass 2 im Massenspektrum im Vergleich zu den entsprechenden Ionen der symmetrisch substituierten Verbindungen (27) und (38) mit etwa halber Intensität auf.

Aufgrund der spektroskopischen Daten ist es wahrscheinlich, daß der Verbindung Sass 2 die in Formelbild (40) wiedergegebene Struktur zukommt.

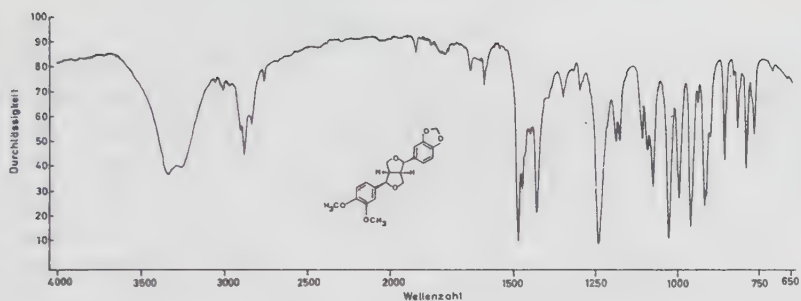


Abb. 12:

IR-Spektrum der Verbindung Sass 2 (KBr Preßling)

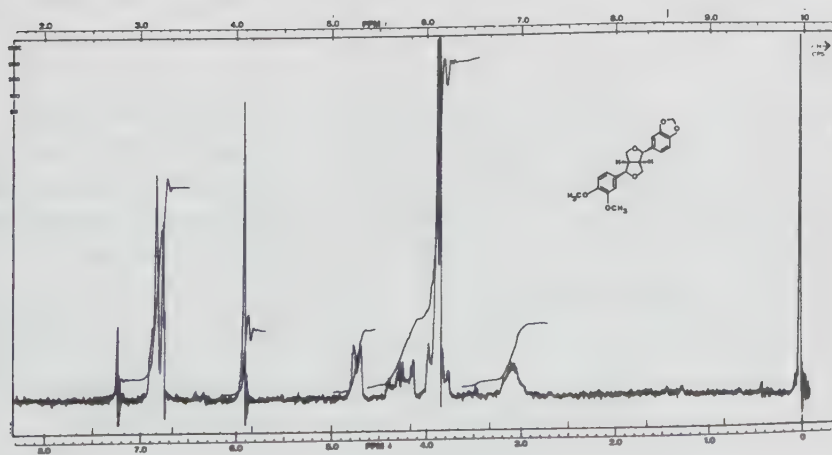
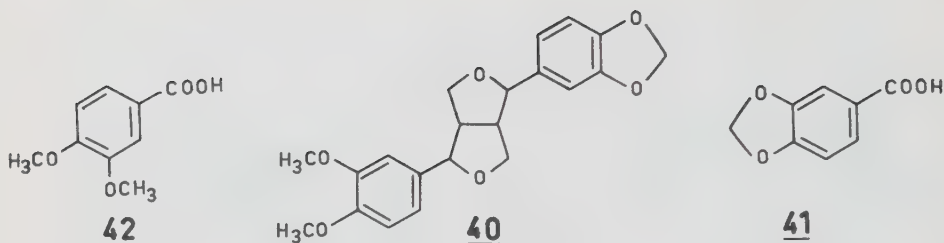


Abb. 13:

NMR-Spektrum der Verbindung Sass 2 (in CDCl_3)



3.1.2.4.2. Thermischer Abbau (64) der Verbindung Sass 2.

Beim thermischen Abbau von Lignanen entstehen die entsprechend substituierten Phenylcarbonsäuren, die direkt aus der Schmelze sublimierbar sind. Es ist also zu fordern, daß im Sublimat der Verbindung Sass 2 sowohl Piperonylsäure (41) als auch Veratrumsäure (42) nachweisbar sind, wenn Strukturvorschlag (40) zutreffen soll.

Das Sublimat (s. Versuchsteil) wurde durch DC unter Co-Chromatographie von Piperonylsäure und Veratrumsäure geprüft. Mit dem Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 1/1 = v/v konnten aus dem Sublimat zwei Substanzen mit den $R_f \times 100$ - Werten 9 und 16 nachgewiesen werden. Für die Vergleichssubstanzen wurden die Werte

$R_{f_V} \times 100 = 9$ (Veratrumsäure) und

$R_{f_P} \times 100 = 16$ (Piperonylsäure) erhalten.

Nach Methylierung mit Dimethylsulfat ergaben sich im gleichen Laufmittel für das Sublimat die $R_f \times 100$ - Werte 29 und 36 und für die Vergleichssubstanzen die Werte

$R_{f_{VMe}} \times 100 = 29$ (Veratrumsäuremethylester) und

$R_{f_{PMe}} \times 100 = 36$ (Piperonylsäuremethylester).

Die übereinstimmenden $R_f \times 100$ - Werte sprechen für das in Formel (40) vorgeschlagene Substitutionsmuster.

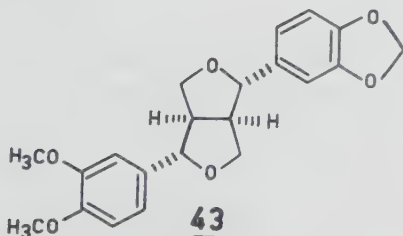
3.1.2.4.3. Charakteristische Unterschiede in den UV-Spektren der Verbindungen Sass 1 und Sass 2.

Die langwellige Absorptionsbande in den UV-Spektren einfacher aromatischer Verbindungen, die am Kern durch eine Dioxymethylengruppe substituiert sind, ist bathochrom verschoben gegenüber der Bande entsprechender Verbindungen, die am Kern durch zwei Methoxygruppen substituiert sind (65). Die Intensität der Absorption ist im Spektrum der dioxymethylensubstituierten Verbindung im langwelligen Bereich größer und im kurzwelligen Bereich kleiner als bei der dimethoxysubstituierten Verbindung (65). Tabelle 6 faßt die diesbezüglichen Werte der Stoffe Sass 1 und Sass 2 sowie die in (65) referierten der Modellssubstanzen 3,4-Methylenedioxybenzoesäure (=Piperonylsäure 41) und 3,4-Dimethoxybenzoesäure (=Veratrumsäure 42) zusammen.

Der beschriebene Effekt ist beim Vergleich der Substanzen Sass 1 und Sass 2 gut zu beobachten.

3.1.2.4.4. Relative und absolute Konfiguration von Sass 2.

Wie in Abschnitt 3.1.2.4.1. angegeben, verhalten sich die Protonen H 4 und H 8 der Verbindungen Sass 1 = (+)-Sesamin und Sass 2 im NMR-Spektrum in Bezug auf Lage und Aufspaltungsmuster gleichartig (vgl. auch Tabelle 4 und 5), so daß man Sass 2 der diäquatorialen Reihe zuordnen kann. Als spezifische Drehung der Verbindung Sass 2 wurde der Wert $\alpha_{20}^D = + 73,6$ gemessen (62). Verbindung Sass 2 läßt sich jetzt durch das Formelbild (43) wiedergeben, das die relative und absolute Konfiguration ausdrückt.



	$\lambda_{\max_1}$	$\lambda_{\max_2}$
Sass 1	$\lambda = 236 \text{ nm}$ $\epsilon = 8820$	$\lambda = 287 \text{ nm}$ $\epsilon = 8120$
Sass 2	$\lambda = 233 \text{ nm}$ $\epsilon = 13290$	$\lambda = 284 \text{ nm}$ $\epsilon = 6800$
Piperonyl- säure	$\lambda = 259 \text{ nm}$ $\epsilon = 7100$	$\lambda = 295 \text{ nm}$ $\epsilon = 6450$
Veratrum- säure	$\lambda = 258 \text{ nm}$ $\epsilon = 10500$	$\lambda = 290 \text{ nm}$ $\epsilon = 5100$

Tabelle 6

Für das Bisepoxylignan Sass 2 wird die Trivialbezeichnung Desmethoxyaschantin vorgeschlagen.

3.1.3. Zwei einfache Phenylpropane aus Lignum Sassafras.

3.1.3.1. Isolierung der Verbindung Sass 3.

Nach säulenchromatographischer Abtrennung der Substanz Sass 1 befanden sich die Stoffe Sass 3 und Sass 5 noch in einer Fraktion (vgl. Abschn. 3.1.2.1.). Durch erneute Säulenchromatographie mit dem Laufmittel Benzol/Aceton = 98/2 = v/v konnten die Substanzen Sass 3 und Sass 5 voneinander getrennt werden. Sass 3 wurde chromatographisch rein in Form gelber Nadeln aus Cyclohexan/Aceton (9/1) erhalten.

Schmp. 84 - 85°, Ausbeute 0,25 g.

3.1.3.2. Identifizierung der Verbindung Sass 3.

3.1.3.2.1. Spektroskopische Methoden.

Aufgenommen wurden das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum. Aus dem Massenspektrum ergibt sich für Sass 3 ein Molekulargewicht von 176 (m/e).

Im IR-Spektrum (Abb. 14) finden sich die typischen Absorptionsbanden aromatischer Verbindungen (3030 cm^{-1} , 1610 und 1590 cm^{-1} , 1490 cm^{-1} , 870 cm^{-1} und 810 cm^{-1}). Das UV-Spektrum ($\lambda_{\text{max}} = 246$, $\epsilon = 10220$ und $\lambda_{\text{max}} = 295$, $\epsilon = 9600$) und das NMR-Spektrum (Abb. 15) ($3,8 - 2,4\text{ ppm}$, m, 3+2 H) bestätigen den aromatischen Charakter der Verbindung Sass 3.

Ferner geht aus dem NMR-Spektrum hervor, daß im Molekül eine Aldehydgruppe vorhanden ist ($0,4\text{ ppm}$, d, 1 H). Die entsprechende Carbonylbande liegt im IR-Spektrum bei $1650 - 1665\text{ cm}^{-1}$, was darauf hindeutet, daß es sich um einen α, β - ungesättigten oder noch weiter konjugierten Aldehyd handelt (s. a. NMR-Spektrum: 1 Proton in Nachbarstellung zur Aldehydgruppe).

Das Singulett bei 4,1 ppm des NMR-Spektrums ist den beiden Protonen einer Dioxymethylengruppe zuzuordnen. Die entsprechenden Absorptionsbanden im IR-Spektrum sind vorhanden (2780 , 940 , 715 cm^{-1}).

Die bisherige Spektrendiskussion macht wahrscheinlich, daß es sich bei der Verbindung Sass 3 um einen Zimtaldehyd handelt, dessen aromatischer Ring durch eine Dioxymethylengruppe substituiert ist.

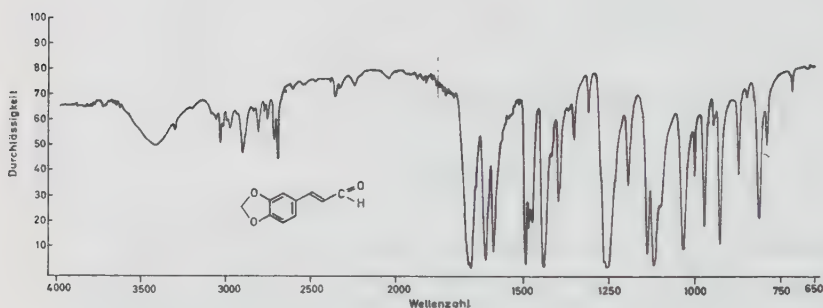


Abb. 14:

IR-Spektrum der Verbindung Sass 3 (KBr Preßling)

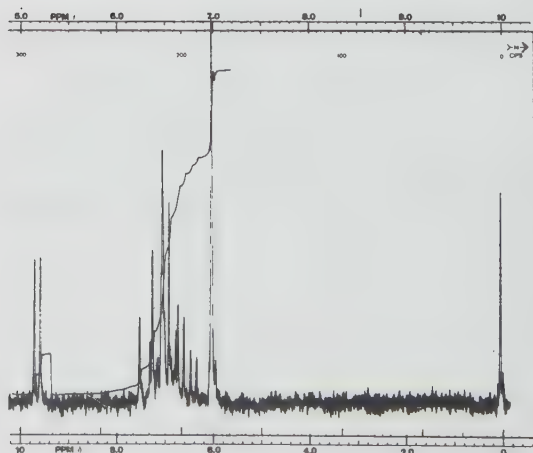


Abb. 15:

NMR-Spektrum der
Verbindung Sass 3
(in CDCl_3)

3.1.3.2.2. Vergleich von Sass 3 mit synthetischem 3,4-Methylenedioxybenzaldehyd (= Piperonylakrolein).

Piperonylakrolein ist auf synthetischem Wege aus Piperonal und Acetaldehyd leicht zugänglich (66). Der Mischschmelzpunkt von Sass 3 und synthetischem Piperonylakrolein zeigt keine Depression. Die Schmelzpunkte der 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Sass 3 und von synthetischen Piperonylakrolein liegen je bei 242-243° (Lit (67): 242 - 243°). Der Mischschmelzpunkt zeigte keine Depression.

Die IR-Überlagerungsspektren von Sass 3 und Piperonylakrolein (Abb.16) stimmen in allen Einzelheiten überein.

Demnach ist die Verbindung Sass 3 mit dem in Formelbild (44) wiedergegebenen Piperonylakrolein identisch.

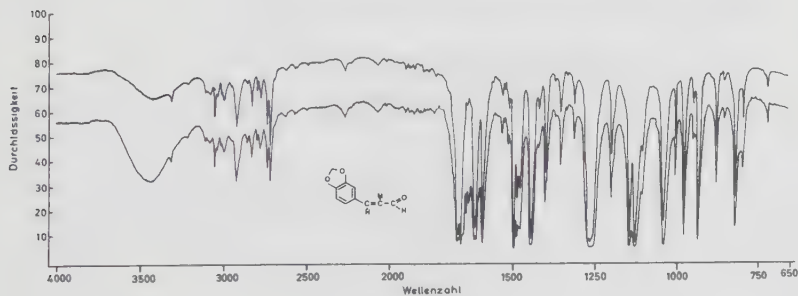
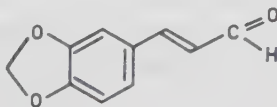


Abb. 16:

IR-Überlagerungsspektrum von Verbindung Sass 3 (oberes Spektrum) und von synthetischem 3,4-Methylenedioxybenzaldehyd (unteres Spektrum (KBr Preßling))



44

SASS 3

3.1.3.3. Isolierung der Verbindung Sass 4.

Sass 4 ist die bei weitem hydrophilste der fünf aus Lignum Sassafras isolierten Substanzen (vgl. Tabelle 1). Deshalb konnte Sass 4 schon bei der ersten säulenchromatographischen Auftrennung des Rohextraktes mit dem Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 1/1 = v/v in einer Fraktion erhalten werden, die völlig frei von den Substanzen Sass 1, 2, 3 und 5 war. Durch erneute Säulenchromatographie mit dem Laufmittel Benzol/Aceton = 6/4 = v/v konnte eine Fraktion gewonnen werden, die Sass 4 in chromatographisch reiner Form enthielt. Nach Umkristallisation aus Cyclohexan verblieb eine Ausbeute von 0,4 g weißer Nadeln vom Schmp. 79°.

Die Verbindung ist optisch aktiv: $\alpha_{20}^D = + 10,0$.

3.1.3.4. Charakterisierung der Verbindung Sass 4.

3.1.3.4.1. Spektroskopische Methoden.

Aufgenommen wurden das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum.

Aus Massenspektrum und Elementaranalyse ergibt sich ein Molekulargewicht von 196 (m/e) und eine Bruttoformel von $C_{10}H_{12}O_4$ (196,2).

gef.: C 61,0 % H 5,9 %

ber.: C 61,2 % H 6,1 %

Aus dem NMR-Spektrum (Abb. 19) ist rasch zu erkennen, daß es sich auch bei Verbindung Sass 4 um einen trisubstituierten Aromaten handelt: Das Spektrum zeigt drei aromatische Protonen bei 3,3 ppm. Zwei Substitutionsstellen entfallen auf eine Dioxymethylengruppe (NMR: 4,1 ppm, s, 2H; IR: 2770, 925 und 720 cm^{-1}).

Zwei der im NMR-Spektrum im Bereich von 7,3 - 7,6 ppm auftretenden Protonen sind in D_2O austauschbar (Abb. 20), ein Hinweis auf das Vorliegen zweier alkoholischer Gruppen.

Der Basispeak des Massenspektrums m/e 135 (Abb. 21) entspricht dem durch eine Dioxymethylengruppe substituierten Tropylium-Ion. Als wahrscheinliche Struktur der Verbindung Sass 4 ergibt sich aus der Spektrendiskussion die eines benzylsubstituierten Äthandiols (45). UV- und IR-Spektrum (Abb. 17,18) der Verbindung Sass 4 weisen beträchtliche Ähnlichkeit mit den Spektren des Sesamins auf (Abb. 6,7).

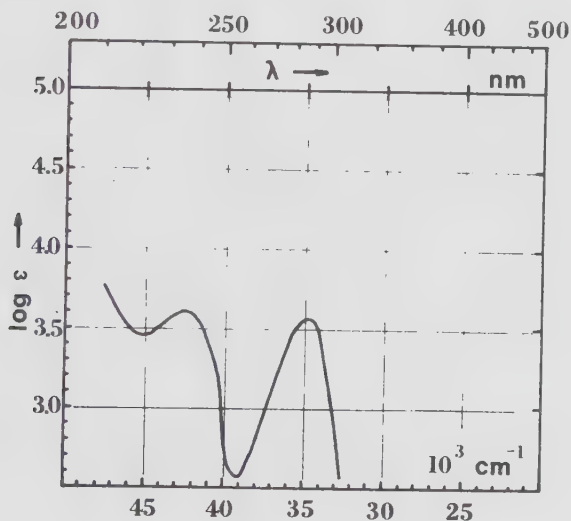


Abb. 17:

UV-Spektrum der Verbindung Sass 4 (in Methanol)

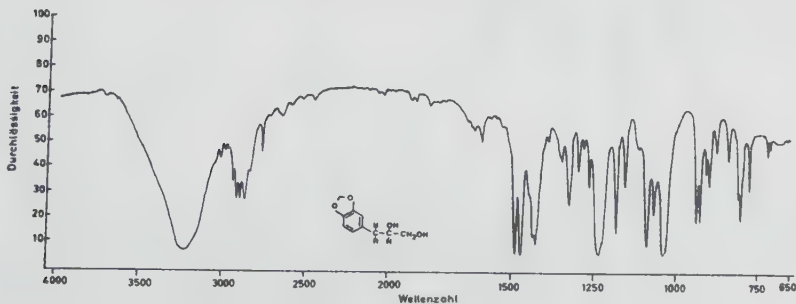


Abb. 18:

IR-Spektrum der Verbindung Sass 4 (KBr Preßling)

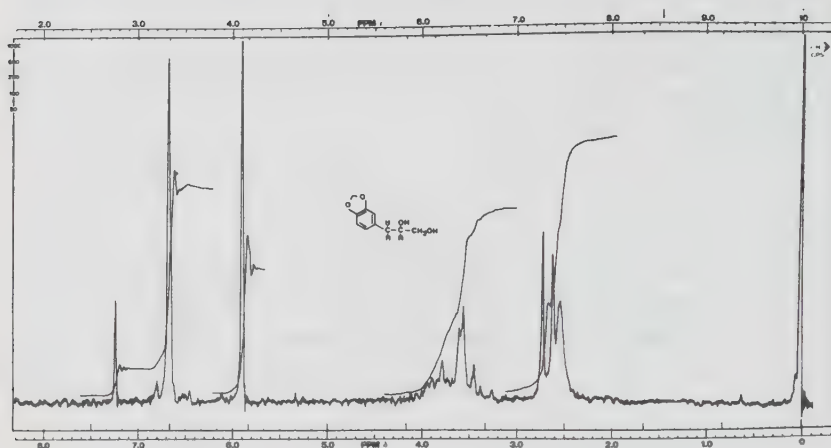


Abb. 19:

NMR-Spektrum der Verbindung Sassa 4 (in CDCl_3)

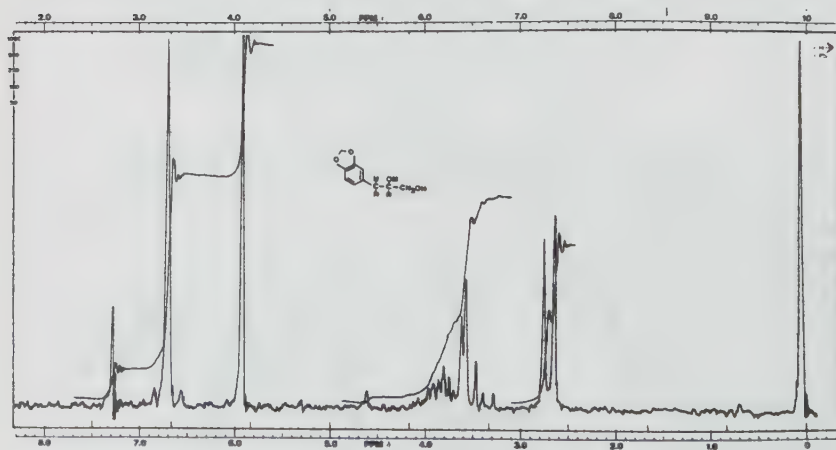


Abb. 20:

NMR-Spektrum der Verbindung Sassa 4 (CDCl_3 , D_2O - Austausch)

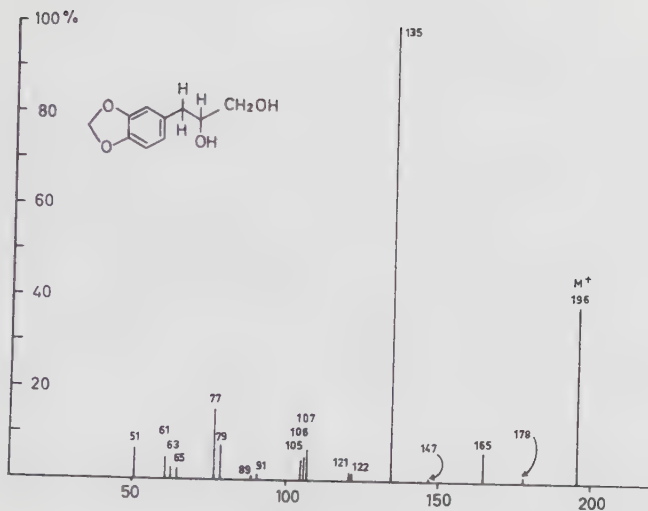


Abb. 21:

Massenspektrum der Verbindung Sass 4

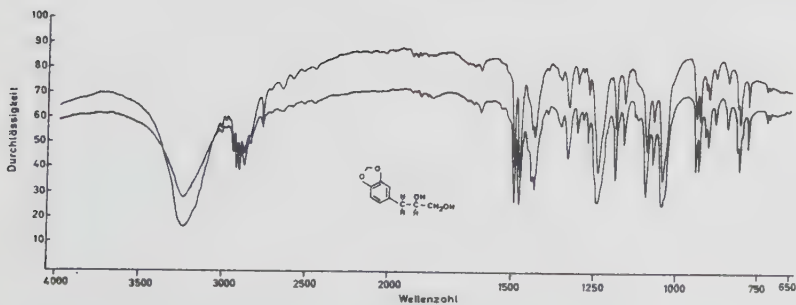


Abb. 22:

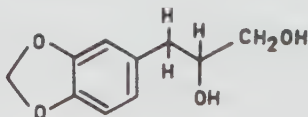
IR-Überlagerungsspektrum von Sass 4 (oberes Spektrum) und synthetisiertem Safrolglycol (unteres Spektrum) (KBr-Pressling)

3.1.3.4.2. Strukturbeweis durch Vergleich mit synthetisiertem
(±) 2,3-Dihydroxy-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)propan
(=Safrolglycol).

Die Vergleichssubstanz erhält man leicht nach Standard-Vorschrift (68) aus Safrol über das Epoxyd.

Die IR-Überlagerungsspektren (Abb.22) des synthetisierten Diols und der Verbindung Sass 4 stimmen in allen Einzelheiten überein. Nicht von vornherein zu erwarten war, daß synthetisches Racemat und natürliche (+)- Verbindung im Schmelzpunkt übereinstimmen und im Mischschmelzpunkt keine Depression aufwiesen. Allem Anschein nach bilden die beiden Racemformen racemische Mischkristalle mit dem Schmelzpunkt der Enantiomeren (69), wofür auch die völlige Übereinstimmung der IR-Spektren spricht, die von den Festsubstanzen aufgenommen wurden.

Nicht geprüft wurde, ob das von uns aus Lignum Sassafras isolierte (+)- Safrolglycol optisch rein ist. Offen bleibt ferner die Ermittlung der Absolutkonfiguration.



45
SASS 4

3.1.4. Ein Steroidgemisch aus Lignum Sassafras.

3.1.4.1. Isolierung der Substanz Sass 5.

Wie in Abschnitt 3.1.3.1. beschrieben, wurden die Substanzen Sass 3 und Sass 5 säulenchromatographisch voneinander getrennt. Der feste, weiße Abdampfrückstand der Sass 5-haltigen Fraktion konnte aus Methanol kristallisiert werden. Ausbeute: 0,3 g weiße Plättchen vom Schmp. 136-138°.

3.1.4.2. Identifizierung der Substanz Sass 5.

3.1.4.2.1. Spektroskopische Methoden.

Aufgenommen wurden das IR-, NMR- und das Massenspektrum. Die Substanz zeigt keine Absorption im ultravioletten Bereich. Die Werte der Elementaranalyse

C 82,6 % H 11,7 %

und das massenspektrometrisch ermittelte Molekulargewicht von 414 (m/e) sind nur vereinbar mit der Summenformel $C_{29}H_{50}O$, ber. C 83,99 % H 12,15 % (56).

Da Sass 5 im UV-Bereich keine Aktivität zeigt, muß die Verbindung nichtaromatischen Charakter haben. Dies wird bestätigt durch das IR- und das NMR-Spektrum (Abb. 23). Das NMR-Spektrum zeigt einen breiten Komplex von sich überlagernden Resonanzen im Bereich von 7,6 bis 9,4 ppm, wie er in dieser typischen Form von den Methylengruppen und den angulären Methylgruppen eines Steroidgerüsts gebildet wird (70,71,72).

Wenn es sich bei der Substanz Sass 5 um ein sauerstoffhaltiges Steroid handelt, was nach den bis hierhin erhaltenen Ergebnissen wahrscheinlich ist, muß eine weitgehende Identifizierung der Substanz mit Hilfe des Massenspektrums möglich sein (73, 74)(Abb. 24).

Die Ionen M-85 und M-111 gelten als Schlüsselbruchstücke für Δ^5 -3-Hydroxysteroidoide (50). Beide Ionen treten im Massenspektrum von Sass 5 auf.

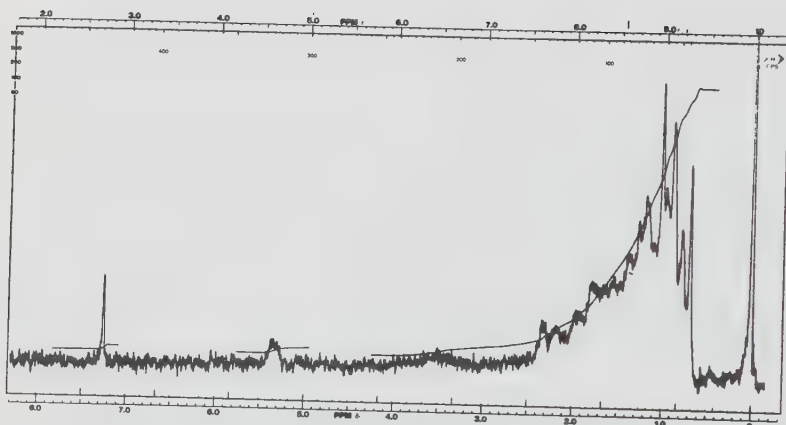


Abb. 23:

NMR-Spektrum der Substanz Sass 5 (in CDCl_3)

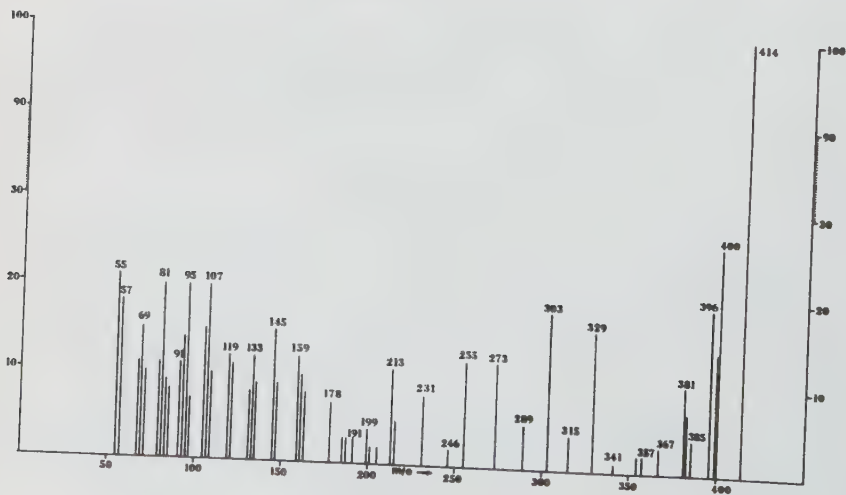
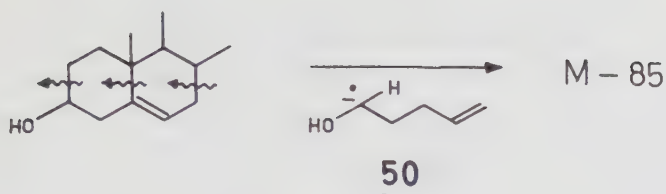
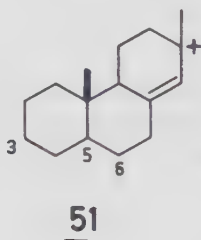


Abb. 24:

Massenspektrum der Substanz Sass 5



Auch das Strukturelement 51, das in diesem Falle am C-3 eine Hydroxylgruppe und zwischen den Atomen C-5 und C-6 eine Doppelbindung trägt, tritt als Ion m/e 231 mit der relativen Intensität 8 in Erscheinung. Strukturelement 51 bildet sich



in entsprechend substituierter Form beim massenspektrographischen Zerfall fast aller Steroide und beweist die Zugehörigkeit einer Verbindung zu dieser Stoffgruppe.

Durch Verlust der Seitenkette entsteht das Ion 273. Die Differenz zum Molekülpeak beträgt 141 Masseneinheiten; diese Differenz läßt sich unter biogenetischen Gesichtspunkten nur einer Seitenkette zuordnen, die am C-24 äthyl-substituiert ist. Neben dem Molekülpeak 414 zeigt das Massenspektrum einen schwächeren Peak bei m/e 400, der als Molekülpeak einer begleitenden homologen Verbindung aufzufassen ist, deren Seitenkette am C-24 eine Methylgruppe trägt. Beide Verbindungen zerfallen in völlig gleicher Weise und unterscheiden sich nur - solange die Seitenkette des Moleküls nicht abgespalten ist - durch eine Differenz von 14 Masseneinheiten.

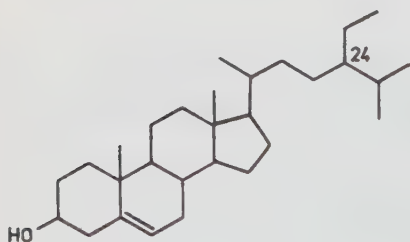
Tabelle 7 zeigt diesen Teil der Fragmentierung von Sass 5 im Massenspektrum.

Ion	m/e (rel. Intensität)	m/e (rel. Intensität)	abgespalten
M	414 (100)	400 (26)	-
M-15	399 (14)	385 (4)	CH ₃
M-18	396 (19)	382 (7)	H ₂ O
M-33	381 (10)	367 (3)	CH ₃ + H ₂ O
M-85	329 (13)	315 (4)	C ₅ H ₉ O
M-111	303 (18)	289 (5)	C ₇ H ₁₁ O

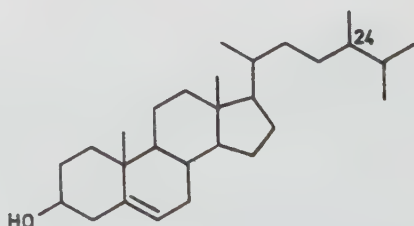
Tabelle 7

Fragmentierung der Substanz Sass 5 im Massenspektrum

Die Interpretation des Massenspektrums erlaubt den Schluß, daß die Substanz Sass 5 zu etwa 80 % aus einem 24-Äthyl-Cholesterin (52) und zu etwa 20 % aus einem 24-Methyl-Cholesterin (53) besteht.



52



53

Folgende Signale des NMR-Spektrums (Abb. 23) lassen sich den ausgezeichneten Protonen eines Δ^5 -3-Hydroxysteroidgerüsts zuordnen (Tabelle 8):

9,3 ppm s	C-18 (3H)
8,99 ppm s	C-19 (3H)
ca 6,5 ppm m breit	C-3-OH (1H)
ca 4,5 ppm m	C-3, C-6 (2H)

Tabelle 8

Die Signale stimmen mit den in der Literatur angegebenen Werten gut überein (71,72,73).

3.1.4.2.2. Optische Drehung der Substanz Sass 5.

Bei dem spektroskopisch identifizierten 24-Äthyl-Cholesterin-Anteil der Substanz Sass 5 kann es sich um β -Sitosterin oder um die stereoisomere Verbindung Clionasterin handeln; das begleitende 24-Methyl-Cholesterin kann Campesterin oder Dihydrobrassicasterin sein (75). β -Sitosterin und Campesterin sind am C-24 der Seitenkette α -substituiert, Clionasterin und 22-Dihydrobrassicasterin sind β -substituiert. Die Verbindungen unterscheiden sich in ihrer optischen Aktivität (Tabelle 9).

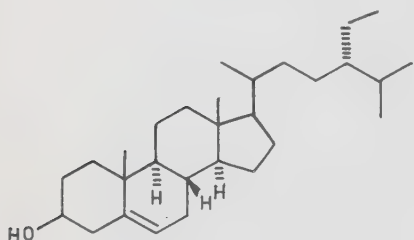
β -Sitosterin	$\alpha_D^{25} = -37 \text{ (CHCl}_3\text{)}$
Clionasterin	$\alpha_D = -42 \text{ (CHCl}_3\text{)}$
Campesterin	$\alpha_D^{23} = -33 \text{ (CHCl}_3\text{)}$
22-Dihydrobrassicasterin	$\alpha_D = -46 \text{ (CHCl}_3\text{)}$

Tabelle 9

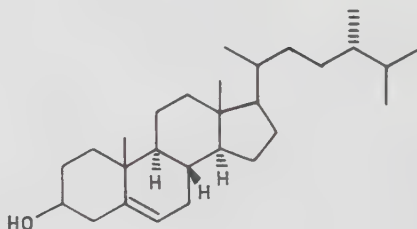
Die spezifische Drehung der Substanz Sass 5 beträgt $\alpha_D^{20} = -35 \text{ (CHCl}_3\text{)}$.

Das in Sass 5 zu etwa 80 % enthaltene 24-Äthyl-Cholesterin kann also nur β -Sitosterin (54) sein. Es ist - auch aus biogenetischen Gründen - wahrscheinlich, daß es sich bei dem begleitenden

24-Methyl-Cholesterin ebenfalls um die am C-24- α -substituierte Verbindung, also das Campesterin (55), handelt.



54



55

3.1.4.2.3. Acetylierung und DC-Vergleich.

Sass 5 wurde dc mit authentischem β -Sitosterin *) verglichen. Farbreaktion und RF-Werte von Sass 5 und authentischem β -Sitosterin sowie auch die der jeweiligen Acetate stimmten überein. Eine dc Trennung von β -Sitosterin und Campesterin konnte unter den angewandten Bedingungen nicht erreicht werden.

*) Ich danke Herrn Professor Dr. Rimpler für die Überlassung der authentischen Vergleichsprobe.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Experimenteller Teil

3.2. Experimenteller Teil.

3.2.1. Allgemeine Angaben

Chromatographie:

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm Größe verwendet. Für die laufenden Untersuchungen wurden sie mit dem Streichgerät nach STAHL beschichtet; die Schichtdicke des Sorptionsmittels (Kieselgel F "Woelm" DC) betrug etwa 0,25 mm. Die in der vorliegenden Arbeit angegebenen Rf - Werte gelten - wenn nicht anders angegeben - für DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄ Merck, die eine bessere Reproduzierbarkeit der Werte gewährleisten. Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel "Woelm" (ϕ 0,05 - 0,2 mm) verwendet.

Detektion: Als Sprühreagenz wurde eine Lösung von 5 T. Anisaldehyd und 5 T. Phosphorsäure in 90 T. Äthanol verwendet. Optimale Farbauscheidung nach etwa 15-minütigem Erhitzen im Trockenschrank bei 120°.

UV - Spektroskopie:

Die Absorptionsspektren wurden mit einem Zeiss - Spektralphotometer PMQ II aufgenommen. Konzentration: 1 mg/100 ml (Quarzküvette mit 1 cm oder 0,5 cm Schichtdicke). Als Lösungsmittel wurden Methanol oder Äthanol (Uvasole) verwendet.

IR - Spektroskopie:

Die IR - Spektren wurden mit einem Leitz - Unicam - Spektralphotometer SP 200 G in KBr - Preßlingen aufgenommen.

Konzentration: 1,2 mg / 150 mg.

NMR - Spektroskopie:

Die Kernresonanzspektren wurden mit dem Spektrometer Varian-S-60 aufgenommen *. Lösungsmittel: CDCl_3 , Tetramethylsilan als innerer Standard. Alle Angaben von ppm-Werten in $[\tau]$.

Massenspektren

Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrographen CH 4 Varian MAT aufgenommen **.

* Fräulein G. Dreke und Herrn Prof. Dr. Reese, Pharmazeutisches Institut der FU Berlin, danke ich für die Aufnahme der NMR - Spektren.

**Herrn Dr. Schulz, Schering AG Berlin, danke ich für die Aufnahme der Massenspektren.

Schmelzpunktbestimmung:

Die Schmelzpunkte wurden mit einem KOFLER - Heiztischmikroskop bestimmt. Sie sind nicht korrigiert.

Mikroanalysen:

Die Mikroanalysen wurden im Mikroanalytischen Labor I. BEETZ, 8640 Kronach, durchgeführt.

Optische Drehung:

Die Bestimmung der optischen Drehung wurde mit dem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter 0,005 (Zeiss) durchgeführt.

3.2.2. Herkunft der Droge.

Die untersuchte Droge (Lignum Sassafras = Wurzelholz von Sassafras albidum NEES) wurde aus dem Handel bezogen. Sie wurde mit authentischem Material aus dem Botanischen Garten Berlin-Dahlem *) verglichen. Die Proben zeigten bei mikroskopischer Untersuchung Übereinstimmung in den morphologischen Merkmalen (39). Die von uns aus der Handelsware isolierten Stoffe Sass 1, 2, 3, 4 und 5 konnten durch DC-Prüfung der Methylenchloridextrakte (siehe unter 3.2.3.) auch in der authentischen Droge nachgewiesen werden.

3.2.3. Dc-Prüfung des Methylenchloridextraktes.

2 g Droge werden grob gemahlen und 20 min unter Rückfluß mit 10 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Nach Erkalten und Filtrieren werden 0,1 ml aufgetragen. Im Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 1/2 = v/v werden folgende $R_f \times 100$ - Werte erhalten (Werte in Klammern, Detektion nach 3.1.1.):

Sass 1 (46, braungelb), Sass 2 (36, braungelb), Sass 3 (44, blau), Sass 4 (10, gelb) Sass 5 (42, blauviolett).

Trennung von Sass 3 und Sass 5 im Laufmittel Benzol/Aceton = 98/2=v/v:

Sass 3 (26, blau), Sass 5 (11, blauviolett).

3.2.4. Isolierung der Substanzen Sass 1, 2, 3, 4 und 5.

5 kg grob gemahlene Droge werden in Anteilen von 500 g je zweimal 1 Std. mit 1 l CH_2Cl_2 unter Rückfluß ausgekocht. Abpressen, Filtrieren, Einengen i.V. ergeben 90 g Rohextrakt.

90 g Rohextrakt werden in Anteilen von je 15 g als Celite-Verreibung (Extrakt in wenig CH_2Cl_2 aufnehmen, mit 15 g Celite verreiben, trocknen) auf mit Kieselgel (500 g) beschickte Säulen (66 cm x 4,5 cm) gebracht und mit insgesamt etwa 10 l Cyclohexan/Essigester (1/1 = v/v) eluiert (1,5 ml/min). Nach DC-Prüfung ein-

*) Ich danke der Direktion des Botanischen Gartens und Museums, insbesondere Herrn Ingo Hoffmann, für die Überlassung des Vergleichsmaterials.

heitliche Fraktionen werden vereinigt. Es resultieren insgesamt 4 Fraktionen F_1 bis F_4 (siehe nachstehende Tabelle).

DC-Prüfung im Laufmittel Cyclohexan/Essigester = 2/1 = v/v.

Fraktion	Abdampf- rückstand	dc-Prüfung
F_1	31,5 g	Sass 1, 3 und 5, Safrol, nicht identifi- zierte Substanzen (teil- weise Schwanzbildung)
F_2	10,3 g	Sass 2, nicht identifizierte Substanzen
F_3	5,2 g	mehrere Flecke im $R_f \times 100$ - Bereich 20-30; nicht näher identifiziert.
F_4	3,7 g	Sass 4, sonst keine umgrenzten Flecke

Fraktion F_1 = 31,5 g Abdampfrückstand werden als Celite-Verreibung (siehe oben) aufgebracht und an 2 Kieselgelsäulen (je 500 g Kieselgel; Säule 4,5 x 66 cm, Tropfgeschwindigkeit 1,5 ml/min) mit etwa 3 l Cyclohexan/Essigester (8/2 = v/v) als Laufmittel aufgetrennt (Fraktionssammler, DC-Prüfung). Der Vorlauf wird verworfen; die Sass 1, 3 und 5 enthaltenden Fraktionen werden gesammelt, i.V. eingengt und wie oben an Kieselgel mit Cyclohexan/Essigester (10/1 = v/v) als Laufmittel chromatographiert. Es resultieren Eluate, die die Substanz Sass 1 enthalten (= $F_{1,1}$), und Eluate mit den Substanzen Sass 3 und Sass 5 (= $F_{1,2}$). Fraktion $F_{1,2}$ wird daher erneut an Kieselgel aufgetrennt mit Benzol/Aceton = 98/2 = v/v als Laufmittel (dc-Prüfung wie oben); es resultieren die Fraktionen $F_{1,2,1}$ (Substanz Sass 3) und $F_{1,2,2}$ (Substanz Sass 5).

Die Substanzen sind in den jeweiligen Fraktionen bereits in chromatographisch fast reiner Form enthalten. Nach Umkristallisation fallen an:

Sass 1: 3,1 g weiße Nadeln aus Methanol/H₂O = 9/1,
Schmp. 124-125°.

Sass 3: 0,25 g gelbe Nadeln aus Cyclohexan/Aceton = 9/1,
Schmp. 84-85°.

Sass 5: 0,3 g weiße Plättchen aus Methanol,
Schmp. 136-138°.

Der Abdampfrückstand der Fraktion F₂ (10,3 g) wird - wie unter F₁ beschrieben - an einer Kieselgelsäule chromatographiert (500 g Kieselgel; 4,5 x 66 cm; 1,5 ml/min). Durch Elution mit Benzol/Aceton = 8/2 = v/v gewinnt man eine Fraktion, die die Substanz Sass 2 in chromatographisch reiner Form enthält. Der nach dem Einengen verbleibende weißliche Rückstand wird aus Cyclohexan/Aceton = 19/1 umkristallisiert:

Sass 2: 2,4 g weiße Nadeln, Schmp. 75°.

Der Abdampfrückstand der Fraktion F₄ (3,7 g) wird an 300 g Kieselgel (4,5 x 40 cm; 1,5 ml/min) mit dem Fließmittel Benzol/Aceton = 6/4 = v/v chromatographiert. Nach dem Einengen der Sass 4-haltigen Fraktion verbleibt ein klarer sirupartiger Rückstand, der nach einigen Stunden bei Zimmertemperatur durchkristallisiert.

Sass 4: 0,4 g weiße Nadeln aus Cyclohexan,
Schmp. 79°.

3.2.5. Eigenschaften von (+)-Sesamin (Sass 1).

Zusammensetzung:

C₂₀H₁₈O₆ (354,3), Schmp. 124-125° Ber.: C 67,8 %; H 5,1 %
Gef.: C 67,6 %; H 5,0 %

UV: λ_{max} (Methanol) 236 nm (ε = 8820); 287 nm (ε = 8120)

IR: 670 w, 718 w, 725 sh, 750 w, 780 s, 800 m, 810 m, 830 w, 840 w, 855 m, 875 w, 925 s, 935 sh, 950 m, 970 s, 1000 sh, 1035 s, 1055 s, 1090 s, 1115 sh, 1135 w, 1190 s, 1220 sh, 1250 s, 1265 s, 1270 sh, 1311 w, 1335 w, 1360 s, 1400 w, 1415 w, 1440 s, 1460 w, 1485 s, 1500 s, 1510 sh, 1515 w, 1520 sh, 1530 w, 1535 w, 1555 w, 1600 m, 1625 w, 1640 w, 1650 w, 1660 w, 1665 w,

1680 w, 1690 w, 1710 w, 1730 w, 1740 w, 1755 w, 1765 w, 1785 w, 1840 w, 1860 w, 2770 w, 2810 sh, 2830 m, 2880 m, 2900 w, 2920 w, 2950 w, 2990 sh, 3030 w, 3050 w, 3090 w, 3400 s.

NMR: ppm: 6,95 m (2H); 6,3 - 5,2 m (6H); 4,1 s (4H); 3,3 - 3,1 m (6H)

Massenspektrum (relative Intensitäten):

356 (2); 355 (20); 354 (100); 353 (5); 324 (3); 323 (7); 219 (4); 205 (1) 204 (10); 203 (24); 194 (1); 189 (7); 188 (2); 187 (3); 186 (1); 179 (2); 178 (15); 177 (9); 176 (5); 175 (5); 174 (4); 173 (3); 164 (1); 163 (6); 162 (10); 161 (49); 160 (6); 159 (2); 152 (1); 151 (6); 150 (33); 149 (94); 148 (22); 147 (2); 146 (2); 145 (4); 137 (1); 136 (8); 135 (40); 134 (4); 133 (4); 132 (4); 131 (26); 123 (2); 122 (25); 121 (10); 120 (2).

Optische Drehung:

$\alpha_D^{20} = + 66,2$ (CHCl₃) (c = 0,350)

IR-Überlagerungsspektren:

Die IR-Spektren von Sass 1 und authentischem (+)-Sesamin sind deckungsgleich (Gleiche Werte wie oben unter IR angegeben).

3.2.6. Eigenschaften von Desmethoxyaschantin (Sass 2).

Zusammensetzung:

C₂₁H₂₂O₆ (370,4), Schmp. 75° Ber.: C 68,1 %; H 6,0 %

Gef.: C 68,2 %; H 6,1 %

UV: $\lambda_{\max}$ (Methanol) 232 nm ($\epsilon = 13290$); 284 nm ($\epsilon = 6800$)

IR: 670 w, 710 w, 770 m, 775 sh, 790 s, 815 sh, 820 m, 835 w, 860 s, 905 m, 915 s, 920 s, 940 w, 965 s, 1000 s, 1030 s, 1080 s, 1095 s, 1110 m, 1120 sh, 1180 m, 1195 m, 1220 sh, 1245 s, 1295 sh, 1305 w, 1320 w, 1330 w, 1355 w, 1400 w, 1425 sh, 1435 s, 1450 w, 1455 w, 1470 sh, 1480 s, 1490 s, 1530 w, 1550 w, 1560 w, 1565 w, 1585 sh, 1595 m, 1605 w, 1640 w, 1660 w, 1670 w, 1690 w, 1695 w, 1705 w, 1715 w, 1720 w, 1730 w, 1740 sh, 1760 w, 1770 w, 1780 w, 1795 w, 1825 w, 1855 w, 1910 w, 1930 w, 2010 w, 2020 w, 2025 w, 2290 w, 2670 w, 2750 m, 2830 m, 2880 s, 2900 m, 2960 w, 3000 w, 3020 w, 3050 w, 3250 s, 3340 s, 3620 w, 3640 w.

NMR: ppm 7,1-6,8 m (2H); 6,25-5,55 (4H); 6,1 s (3H); 6,13 s (3H); 5,35-5,15 m (2H); 4,05 s (2H); 3,25-3,0 m (6H)

Massenspektrum (relative Intensitäten):

372 (2); 371 (22); 370 (100); 369 (3); 356 (1); 355 (1); 399 (8); 271 (1); 235 (2); 221 (1); 220 (3); 219 (9); 206 (1); 205 (5); 204 (8); 203 (15); 202 (1); 195 (1); 194 (7); 193 (3); 192 (3); 191 (3); 190 (2); 189 (9); 188 (2); 187 (2); 186 (2); 185 (7); 180 (1); 179 (4); 178 (11); 177 (40); 176 (5); 175 (4); 174 (2); 173 (2); 167 (4); 166 (19); 165 (37); 164 (10); 163 (3); 162 (5); 161 (26); 160 (2); 159 (2); 152 (4); 151 (20); 150 (15); 149 (43); 148 (7); 147 (2); 146 (4); 145 (3); 139 (4); 138 (8); 137 (2); 136 (4); 135 (30); 134 (1); 133 (2); 132 (1); 131 (14); 124 (1); 123 (3); 122 (10); 121 (6); 120 (2).

Optische Drehung:

$\alpha_D^{20} = + 73,6$ (CHCl₃; c 0,352)

3.2.7. Thermischer Abbau von Desmethoxyaschantin.

0,1 g Desmethoxyaschantin werden auf einem Sublimationsblock erhitzt. Die im Bereich von 200-300° sich abscheidenden Sublimate werden vergleichend chromatographiert:

DC-Alufolien, Kieselgel F 254, Schichtdicke 0,25 mm, Merck.

Laufmittel: Cyclohexan/Essigester (1/1 = v/v).

Rf x 100-Werte der Sublimate: Rf₁ x 100 = 9; Rf₂ x 100 = 16

Vergleichssubstanzen:

Veratrumsäure: Rf x 100 = 9; Piperonylsäure: Rf x 100 = 16.

Nach Methylierung mit Dimethylsulfat werden folgende Rf x 100-Werte erhalten:

Sublimate: Rf₁ Me x 100 = 29; Rf₂ Me x 100 = 36.

Vergleichssubstanzen:

Veratrumsäuremethylester: Rf x 100 = 29; Piperonylsäuremethylester: Rf x 100 = 36.

Nachweis durch Fluoreszenzlösung.

3.2.8. Eigenschaften von Piperonylakrolein (Sass 3).

Zusammensetzung:

$C_{10}H_8O_3$ (176,2) Schmp. 84-85°

UV: λ_{max} (Methanol) 220 nm ($\epsilon = 10620$), 246 nm ($\epsilon = 10220$),
296 nm ($\epsilon = 9600$), 330 nm ($\epsilon = 15750$)

IR: 715 w, 790 m, 810 s, 850 w, 870 s, 925 s, 940 sh, 945 w,
970 s, 1000 s, 1030 s, 1100 sh, 1120 s, 1138 s, 1190 sh, 1195 m,
1235 sh, 1250 sh, 1255 s, 1265 sh, 1310 w, 1350 m, 1370 w, 1395 sh,
1400 s, 1415 w, 1440 s, 1472 s, 1485 s, 1490 s, 1565 sh, 1590 s,
1605 sh, 1610 s, 1640 sh, 1655 s, 1660 s, 1720 w, 1740 w, 1760 w,
1760 w, 1780 w, 1815 w, 1840 w, 1860 w, 1870 w, 2040 w, 2330 w,
2360 w, 2470 w, 2530 w, 2550 w, 2600 w, 2700 m, 2720 m, 2760 w,
2780 w, 2810 m, 2840 w, 2900 m, 2940 sh, 2975 w, 3000 w, 3020 w,
3030 m, 3060 w, 3090 w, 3300 w, 3420 m.

NMR: ppm: 4,1 s (2H); 3,8-2,4 m (5H); 0,4 d (1H)

Massenspektrum (relative Intensitäten):

176 = M^+ (100 = Basispeak), 147 (46), 145 (15), 135 (13),
122 (20), 118 (33), 105 (1), 89 (68), 77 (6), 74 (16), 63 (57),
53 (13), 51 (17).

3.2.9. Piperonylakrolein als synthetische Vergleichssubstanz.

Synthetisiert wurde nach einer für Zimtaldehyd gegebenen
Vorschrift (66):

15 g Piperonal (3,4-Dioxymethylenbenzaldehyd) und 1 g KOH wurden
in 200 ml 50%igem Methanol unter Rühren gelöst. In die Lösung wur-
den 3,5 g Acetaldehyd langsam und unter Rühren eingetropft. Die
Temperatur wurde während der zweistündigen Reaktionszeit auf 15 -
17° gehalten. Anschließend wurde mit 1 Liter Eiswasser verdünnt,
der Nd. abgesaugt und aus Cyclohexan/Aceton umkristallisiert.
Gelbe Nadeln, Schmp. 84 - 85°, Ausbeute 3,2 g = 23 % d. Theorie.

IR-Überlagerungsspektren:

Die IR-Spektren von Sass 3 und synthetisiertem 3,4-Methylenedioxy-
benzaldehyd sind deckungsgleich.

3.2.10. Eigenschaften von (+)-Safrolglycol (Sass 4).

Zusammensetzung:

$C_{10}H_{12}O_4$ (196,2) Schmp. 79° Ber.: C 61,2 % H 6,1 %
Gef.: C 61,0 % H 5,9 %

UV: λ_{max} (Methanol) 234 nm ($\epsilon = 4100$), 286 nm ($\epsilon = 3820$)

IR: 710 w, 720 w, 775 m, 795 sh, 800 s, 810 m, 840 m, 875 m, 900 m, 910 m, 925 s, 940 s, 1030 sh, 1040 s, 1070 m, 1090 s, 110 w, 1115 w, 1125 w, 1160 m, 1180 s, 1230 sh, 1240 s, 1265 m, 1280 w, 1300 m, 1325 m, 1350 w, 1360 w, 1370 sh, 1390 w, 1410 sh, 1425 sh, 1430 s, 1440 s, 1450 m, 1465 sh, 1475 s, 1490 s, 1510 sh, 1520 sh, 1590 w, 1650 w, 1625 w, 1635 w, 1645 w, 1695 w, 1705 w, 1720 w, 1735 w, 1745 w, 1760 w, 1780 w, 1820 w, 1850 w, 2030 w, 2450 w, 2520 w, 2580 w, 2640 w, 2710 w, 2760 m, 2770 w, 2830 m, 2860 m, 2900 m, 2920 m, 2940 m, 2960 sh, 2980 w, 3010 w, 3030 sh, 3050 w, 3230 s.

NMR: ppm: 7,6-7,3 (4H); 6,8-5,8 m (3H); 4,1 s (2H); 3,3 s breit (3H); nach D_2O -Austausch: 7,3 d (2H); 6,8-5,8 m (3H); 4,1 s (2H); 3,3 s breit (3H)

Massenspektrum (relative Intensitäten):

196 = M^+ (39); 178 (1); 165 (6); 147 (1); 135 (100 = Basispeak); 122 (2); 121 (2); 107 (7); 106 (5); 105 (5); 91 (1); 89 (1); 79 (8); 77 (17); 65 (2); 63 (2); 16 (4); 51 (6).

Optische Drehung:

$\alpha_{20}^D = + 10,0$ ($CHCl_3$; $c = 0,348$)

3.2.11. Synthese von ($\pm$) - Safrolglycol.

100 ml Ameisensäure 98-%ig und 0,12 Mol H_2O_2 30-%ig werden im Laufe von 5 Min. unter Rühren mit 0,1 Mol Safrol versetzt. Die Mischung wird noch 2 Stunden auf 55°-max. 70° gehalten (wichtig: keinesfalls stärker erwärmen!). Die Hauptmenge der Ameisensäure und des Wassers werden i.V. abdestilliert; der Rückstand wird 45 Min. mit 20-%iger wässriger NaOH-Lsg. auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit verd. HCl neutralisiert und i.V. abgedampft. Der Rückstand wird mehrfach mit warmen Essigester extrahiert. Abdampfen, umkristallisieren aus heißem Cyclohexan: weiße Nadeln vom Schmp. 79-80°.

IR-Überlagerungsspektren:

Die IR-Spektren von Sass 4 und synthetisiertem Safrolglycol sind deckungsgleich.

3.2.12. Eigenschaften von Sass 5.

Zusammensetzung:

80 % $C_{29}H_{50}O$ (414,70) 20 % $C_{28}H_{48}O$ (400,66)

Schmp. 136-138° Gef.: C 86,6 % H 11,7 %

IR: 740 w, 800 m, 840 w, 880 sh, 925 w, 955 m, 985 m, 1020 m, 1040 m, 1055 s, 1100 m, 1130 sh, 1190 m, 1230 m, 1250 m, 1300 m, 1330 m, 1360 sh, 1375 s, 1430 sh, 1460 s, 1500 w, 1540 w, 1555 w, 1630 m, 1665 w, 1680 w, 1695 w, 1715 w, 1730 w, 1770 w, 1790 w, 2830 s, 2850 s, 2890 s, 2920 s, 2940 s, 3420 s, 3620 w, 3640 w, 3660 w, 3680 w, 3700 w, 3720 w.

NMR: ppm 9,3 s (3H); 8,99 s (3H); 6,5 m (breit) (1H); 4,5 m (2H)

Massenspektrum (relative Intensitäten):

417 (1), 416 (13), 415 (33), 414 (M^+ 100 Basispeak), 402 (2), 401 (8), 400 (26), 399 (14), 397 (7), 396 (19), 386 (2), 385 (4), 383 (2), 382 (7), 381 (10), 367 (3), 341 (1), 329 (13), 315 (4), 303 (18), 289 (5), 273 (11), 255 (11), 246 (2), 231 (8), 217 (2), 215 (5), 214 (3), 213 (11) 205 (2), 201 (2), 199 (4), 191 (3), 187 (3), 185 (3), 178 (7), 173 (5), 163 (8), 161 (10), 159 (11), 147 (9), 145 (15), 143 (5), 135 (9), 133 (12), 131 (8), 121 (11), 119 (12), 109 (10), 107 (20), 105 (15).

Optische Drehung:

$\alpha_{20}^D = -35'$ ($CHCl_3$; c = 0,342, berechnet auf β -Sitosterin)

4. DISKUSSION

Aus der Problemstellung ergibt sich zunächst die Frage, ob die aus *Lignum Sassafras* isolierten Sekundärstoffwechselprodukte in chemosystematischer Sicht von Interesse sind. Die Arbeit ging von der Hypothese aus, daß Lauraceen und Piperaceen nicht nur anatomisch-morphologisch, sondern auch hinsichtlich ihrer chemischen Inhaltsstoffe miteinander verwandt sind.

Bei den Sassafras-Inhaltsstoffen 1,2,3 und 4 handelt es sich um Abkömmlinge der im Pflanzenreich weit verbreiteten Phenylpropane. Die Sassafras-Inhaltsstoffe 1 ((+)-Sesamin) und 2 (Desmethoxyaschantin) sind Bisepoxylignane der diäquatorialen Reihe (Sesaminreihe). Sie gehören also der (im engeren Sinne) gleichen Stoffgruppe an wie Yangambin und Aschantin (61), die zusammen mit (+)-Sesamin aus Piperaceenfrüchten isoliert werden konnten. Auffällig ist ferner, daß sowohl in der Familie der Piperaceen wie auch in der der Lauraceen Zimtsäurederivate bevorzugt 3,4-Dioxymethylen-Substitution am Aromaten aufweisen. Die vier aus *Lignum Sassafras* isolierten Derivate sind sämtlich in dieser Weise substituiert. Jedoch ist weder das Auftreten von Bisepoxylignanen der Sesaminreihe noch das der 3,4-Dioxymethylensubstitution der aromatischen Ringe auf die beiden Familien oder auch nur auf die Unterklasse der Magnoliidae beschränkt. Man kann demnach feststellen, daß die genannten chemischen Merkmale zwar in den beiden Familien - soweit bisher bekannt - besonders häufig anzutreffen sind und somit der benachbarten Stellung der Familien in den neuen Pflanzensystematiken (7,8) durchaus entsprechen, daß aber ein Beweis für die Verwandtschaft der Lauraceen und der Piperaceen nicht erbracht werden kann. Es ist zu berücksichtigen, daß erst relativ wenige Vertreter der Lauraceen chemisch umfassend untersucht wurden und daß deshalb Schlüsse, die auf der Häufigkeit des Vorkommens der genannten Merkmale beruhen, zum gegenwärtigen Zeitpunkt verfrüht sind. Das in *Lignum Sassafras* gefundene β -Sitosterin wurde bereits aus zahlreichen Spezies der unterschiedlichsten Verwandtschaftskreise isoliert. Das Vorkommen von β -Sitosterin in einer Lauraceen-Art ist u.W. noch nicht beschrieben worden. Es unterstreicht die unspezifische Verbreitung dieses Steroids.

Sassafraswurzelholz war noch in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts ein sehr gebräuchliches Mittel bei Katarrhen, Rheumatismus und Hautausschlägen ("Blutreinigungsmittel", Spezies Lignorum DAB 6). Die Eingeborenen Nordamerikas verwandten die Droge als Fiebermittel. Die Frage, ob die in Lignum Sassafras gefundenen Substanzen eine Erklärung für diese Indikationen sein könnten, läßt sich nicht mit Sicherheit beantworten. Die in relativ hoher Konzentration in der Droge vorkommenden Bisepoxylignane (+)-Sesamin und Desmethoxyaschantin sind u.W. bisher nicht entsprechend pharmakologisch untersucht worden. Vom Sesamin ist bekannt, daß es die insektizide Wirkung von Pyrethrum-Extrakten zu steigern vermag (76); eine physiologische Wirkung ist dem Stoff also von vornherein nicht abzusprechen.

Nach HASSAN und ELGHAMRY (77,78,79) lassen sich für β -Sitosterin im Tierexperiment oestrogene Wirkungen nachweisen. Lignum Sassafras wurde jedoch nie wegen derartiger Wirkungen verwendet, und auch die geringe Konzentration des β -Sitosterins in der Droge macht es unwahrscheinlich, daß diese Substanz an der Drogenwirkung beteiligt ist.

Die einfachen Phenylpropane Sass 3 (Piperonylakrolein) und Sass 4 ((+)-Safrolglykol) lassen sich als Oxydationsprodukte des im ätherischen Öl der Droge reichlich vorkommenden Safrols auffassen. Während die Bildung von Piperonylakrolein durch Luftoxydation aus Safrol auch in vitro erfolgt (67), muß für die Entstehung des (+)-Safrolglykols ein anderer Mechanismus angenommen werden: Safrol könnte unter dem Einfluß mischfunktioneller Oxygenasen in das entsprechende Epoxyd übergehen, das nach Hydrolyse Safrolglykol ergibt. Es existieren zahlreiche Beobachtungen, die darauf hinweisen, daß gerade endständige Vinylgruppen im Zuge der Biosynthese in sauerstoffhaltige Derivate umgewandelt werden können (80).

Die hypothetische Oxiran-Zwischenstufe konnte bisher allerdings nicht als Inhaltsstoff von Sassafras albidum gefunden werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Der Methylenchloridextrakt von Lignum Sassafras wurde dc analysiert. Durch Übertragung der DC auf die präparative Säulenchromatographie konnten 5 kristalline Substanzen isoliert werden.

- 1) Sass 1 wurde durch spektroskopische Methoden als (+)-Sesamin identifiziert.
- 2) Sass 2 wurde als eine um eine Methoxygruppe ärmere Strukturvariante des Aschantins erkannt. Die Struktur wurde durch spektroskopische Methoden und durch thermischen Abbau der Substanz ermittelt. Für die Verbindung Sass 2 wird die Trivialbezeichnung Desmethoxyaschantin vorgeschlagen.
- 3) Sass 3 wurde durch spektroskopische Methoden als Piperonylakrolein identifiziert. Die Struktur wurde durch Synthese bewiesen.
- 4) Sass 4 wurde durch spektroskopische Methoden als Safrolglycol identifiziert. Die Struktur wurde durch Synthese von + Safrolglycol bewiesen. Verbindung Sass 4 ist optisch aktiv. Offen bleibt die Ermittlung der Absolutkonfiguration.
- 5) Sass 5 wurde durch spektroskopische Methoden als ein Gemisch von 80 % β -Sitosterin und 20 % Campesterin identifiziert.

Die Isolierung und Identifizierung der 5 beschriebenen Substanzen wurde zum Anlaß genommen, die chemosystematische Bedeutung der Lignane und des β -Sitosterins zu diskutieren, insbesondere im Hinblick auf die botanische Verwandtschaft von Lauraceen und Piperaceen. Es wurde ferner die Frage diskutiert, ob die 5 aus Lignum Sassafras isolierten Substanzen die bis in neuere Zeit reichende Verbreitung von Lignum Sassafras als Arzneidroge erklären können. Das Auffinden von (+)-Sesamin und von Desmethoxyaschantin wurde zum Anlaß genommen, Literatur über die Stoffgruppe der Lignane näher zu studieren.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) D. ZANDER, Aschantin, ein neues Lignan aus *Piper guinense*, Dissertation Freie Universität Berlin (1961)
- (2) R. HÄNSEL und L. KLAPROTH, Isolierung von 11-Methoxy-Yangonin aus der Kawawurzel, Arch. Pharmaz. 299, 6, S. 503 - 506, (1966)
- (3) R. HÄNSEL, CH. LEUCKERT und G. SCHULZ, Isolierung eines neuen Lignans und mögliche Korrelation zur Piperinführung, Z.Naturforsch. 21 b, S. 530 - 535 (1966)
- (4) H. SAUER und R. HÄNSEL, Kawalactone und Flavonoide aus einer endemischen Piper-Art Neu Guineas, Planta med., 15, 4, (1967)
- (5) R. HÄNSEL, *Piper methysticum*, der Rauschpfeffer. Geschichte und gegenwärtiger Stand der Wirkstoff-Forschung, Dtsch. Apotheker-Ztg., 104, 15, S. 459 - 464 und 16, S. 496 - 501 (1964)
- (6) W. B. MORS, M. TAVEIRA MAGALHAES und O. R. GOTTLIEB, Naturally Occuring Derivates of Monocyclic α -Pyrones in Fortsch. Chem. org. Naturstoffe, XX, Wien 1962, S. 158
- (7) A. CRONQUIST, The Evolution and Classification of Flowering Plants, London - Edinburgh (1968) S. 145
- (8) A. TAKHTAJAN, Flowering Plants, Origin and Dispersal, Edinburgh (1969) S. 206
- (9) ENGLER, Syllabus der Pflanzenfamilien II, Berlin 1964
- (10) DARLINGTON - WYLIE, Chromosome - Atlas of Flowering Plants, London 1955
- (11) W. L. STERN, Comparative Anatomy of Xylem and Phylogeny of Lauraceae, Trop. Woods, 100, S. 1 - 73 (1954)
- (12) NEES, Syst. Laur. 488, 1836
- (13) LINNAEUS, Gen. Pl. 173, 1754
- (14) NEES und EBERMAIER, Handb. pharm. Bot. 418 (1830)
- (15) HAYNE, Getreue Darstellung und Beschreibung der in der Arzneykunde gebräuchlichen Gewächse, Bd. 12, Berlin 1833
- (16) GUENTHER, The Essential Oils, Vol. IV, Toronto - New-York - London, 1950, S. 183 - 328
- (17) GILDEMEISTER - HOFFMANN, Die ätherischen Öle, Band V, Berlin 1959, S. 1 - 149

- (18) HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen, Basel u. Stuttgart 1966, Bd. 4, S. 350 - 381
- (19) K. GORTER, Bull. Jardin Botan. Buitenzorg (3) 3, 180 (1921)
- (20) R. C. CAMBIE et al., A New Zealand Phytochemical Survey, New Zealand J. Sci. 4, S. 604 - 663 (1961)
- (21) W. J. DUNSTAN et al., Nature 160, 577 (1947)
- (22) M. GRESSHOFF, Kew Bull., 1909, 418
- (23) A. J. CHARLSON u. N. K. RICHTMYER, J. Am. Chem. Soc., 81, 1512 (1959); 82, 3428 (1960)
- (24) H. H. SEPHTON u. N. K. RICHTMYER, J. Org. Chem. 28, 1691, 2388 (1963)
- (25) F. R. EARLE et al., J. Am. Oil Chemists' Soc. 37, 440 (1960)
- (26) ECKEY, Vegetable Fats and Oils, New-York (1954), S. 414 - 425
- (27) HILDITCH, The Chemical Constitution of Natural Fats, London 1956, S. 163, S. 246
- (28) HALBERKANN, J. Arch.Pharm., 254, 246 (1916)
- (29) N. S. CROSSLEY u. C. DJERASSI, J. Chem. Soc. 1962, 1459
- (30) G. C. BROPHY et al., Tetrahedron Lett. 59, 5139 - 5162, 1969
- (31) J. J. HOBBS u. F. E. KING, J. Chem. Soc. 1960, 4732
- (32) W. B. MORS, et al., Anais Assoc. Brasil. Quim. 21 (1-4), 7-12 (1962)
- (33) W. SPOON, Chem. Weekblad 54, 236 (1958)
- (34) A. K. KIANG et al., Proc. Chem. Soc., 1961, 455; J. Chem. Soc. 1962, 4338
- (35) HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen, Basel u. Stuttgart 1969, Bd. V, S. 311 - 324
- (36) MONARDES, Historia medicinal de las Cosas que se traen de nuestras Indias occidentales qui sirven en medicina. Sevilla, 1574, S. 51
- (37) FLÜCKINGER, Dokumente zur Geschichte der Pharmazie, Halle 1876, S. 30 u. 31

- (38) FLÜCKINGER u. HANBURY, Pharmacographica, 1879, S. 537
- (39) BERGER, Handbuch der Drogenkunde, Bd. 3, Wien 1952, S. 498
- (40) United States Department of Agriculture, Washington D.C., Techn. Bull. Nr. 16, 1928, Revised March 1952, S. 17
- (41) POWER u. KLEBER, Pharmac. Review 14, 101 (1896)
- (42) C. S. RAFINESQUE, Medicinal Flora or Manual of the Medical Botany of the United States of North America, 1830, Vol. 2, S. 235
- (43) P. KALM, Beschreibung einer Reise nach dem nördlichen Nordamerika im Jahre 1748 und 1749, Göttingen 1754, Bd. 3, S. 358
- (44) FLÜCKINGER, Pharmakognosie des Pflanzenreiches, 3. Aufl., Berlin 1891 (18), S. 198
- (45) R. D. HAWORTH, An. Rep. chem. Soc., London, 33, 266 (1936)
- (46) H. ERDTMAN, Liebig's, Ann. Chem. 516, 162 (1935)
- (47) R. D. HAWORTH, J. chem. Soc. (London), 1942, 488
- (48) B. L. VANZETTI, Atti V. Congr. Chim. appl. (II) 5, 932 (1936)
- (49) R. D. HAWORTH, Nature (London), 147, 255 (1941)
- (50) K. FREUDENBERG in Proceedings of the Fourth International Congress of Biochemistry, Wien 1958
- (51) K. FREUDENBERG u. A. C. NEISH, Constitution and Biosynthesis of Lignin, 1968
- (52) M. LUCKNER, Der Sekundärstoffwechsel in Pflanze und Tier, Jena 1969, S. 311
- (53) D. HESS, Pflanzenphysiologie, Stuttgart 1970, S. 140 - 145
- (54) K. FREUDENBERG u. K. WEINGES, Tetrahedron 15, 115, (1961)
- (55) L. KLAUFROTH, Dissertation Berlin 1966
- (56) G. EGE, Zahlentafeln zur Massenspektroskopie und Elementaranalyse, Weinheim 1970
- (57) A. PELTER, J. chem. Soc. (C), 1967, S. 1376 - 1380
- (58) A. J. BIRCH, P. L. MAC DONALD und A. PELTER, J. chem. Soc. (London) 1967 C, 1968

- (59) C. K. ATAL, K. L. DHAR u. A. PELTER, J. chem. Soc. (London) 1967 C, 2229
- (60) W. A. JONES, M. BEROZA u. E. D. BECKER, J. org. Chemistry 27, 3232 (1962)
- (61) R. HÄNSEL u. A. PELTER, Arch. Pharm. 302, 12 S. 940 - 942
- (62) K. FREUDENBERG u. C. S. SIDHU, Chem. Ber. 94, 851 (1961)
- (63) R. HÄNSEL u. D. ZANDER, Arch. Pharmaz. 294, 699 (1961)
- (64) R. HÄNSEL, CH. LEUCKERT u. G. SCHULZ, Z. Naturforsch. 21 b, 530 (1966)
- (65) L. HRUBAN u. F. SANTAVY, Collect. czechoslov. chem. Commun. 32, 3414 (1967)
F. SANTAVY, L. HRUBAN, V. SIMANEK u. D. WALTEROVA, Collect. czechoslov. chem. Commun. 35, 2418 (1970)
- (66) DBP. - Anm. B. 9977 (1950), C. F. Boehringer u. Söhne, Erf. A. HÄUSSLER
A.P. 2529 186 (1947), United States Rubber Co., Erf. H. H. RICHMOND
in: HOUBEN - WEYL, Methoden der organischen Chemie, Band 7/1, Stuttgart 1954, S. 84
- (67) T. KURAOKA, Nippon Kagaku Zasshi 82, 50 - 52 (1961) ref. in C. A. 56, 100 13 C
- (68) Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 6. Aufl. Berlin 1967, S. 281
- (69) E. L. ELIEL, Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen, Weinheim 1966, S. 55 - 56
- (70) Varian High Solution NMR-Spektren Catalog, 1962
- (71) W. NEUDERT, H. RÖPKE, Steroid-Spektrenatlas, Berlin - Heidelberg - New York 1965
- (72) JEOL, High Resolution NMR Spektren, Sadtler, Philadelphia, 1967, No 60 - 218
- (73) M. SPITELLER - FRIEDMANN, G. SPITELLER, Massenspektren von Steroiden in Fortschritte der chemischen Forschung 12, 3
- (74) B. v. UNRUH, M. SPITELLER - FRIEDMANN u. G. SPITELLER, Tetrahedron 26, 3039 - 3044, 3289 - 3301, 3303 - 3311, 3329 - 3346

- (75) G. W. PETTERSON et R. W. KRAUSS, Plant Cell Physiol. (Tokyo), 6, 211 (1965) ref. in C. A., 64, 3637 b (1966)
- (76) HALLER, LA FORGE, SULLIVAN, J. org. Chemistry 7, 185 (1942)
- (77) A. HASSAN, M. J. ELGHAMRY, S.M.A.D. ZAYED, Naturwissenschaften, 17, 409 (1964)
- (78) M. J. ELGHAMRY, Z. Naturforsch., 15 b, Heft 1, 45 - 49 (1960)
- (79) M. J. ELGHAMRY, S.M.A.D. ZAYED, Planta med. 14, 217 - 221 (1966)
- (80) F. BOHLMANN, Natürliche Acetylenverbindungen in Fortschr. chem. Forsch. 6, 65 (1966)

7. LEBENSLAUF

Ich wurde am 14. März 1943 als Sohn des Oberamtmannes Karl-Heinz Höke und seiner Ehefrau Erika, geborene Dittforth, in Münster/Westfalen geboren.

In Münster/Westfalen besuchte ich von 1949 bis 1953 die Volksschule.

Im Jahre 1953 übersiedelten meine Eltern nach Düsseldorf. Dort besuchte ich ab Frühjahr 1953 das Städtische Rethel-Gymnasium, an dem ich im März 1962 das Abitur bestand.

Vom 1. April 1962 bis zum 31. März 1964 war ich Praktikant in der Münster-Apotheke, Düsseldorf, und bestand im März 1964 die Pharmazeutische Vorprüfung. Nach einjähriger Tätigkeit als vorexaminierter Apotheker in verschiedenen Apotheken begann ich im Sommersemester 1965 das Studium der Pharmazie an der Wilhelms-Universität Münster/Westfalen.

Im Mai 1968 legte ich an der Wilhelms-Universität Münster/Westfalen die Pharmazeutische Prüfung ab. Danach war ich ein halbes Jahr als Kandidat in der Gallus-Apotheke, Frankfurt/Main, tätig.

Seit Januar 1969 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin.

Seit dem 1. Januar 1969 bin ich an dem gleichen Institut mit der Wahrnehmung der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten beauftragt. Am 14. November 1969 wurde ich zum wissenschaftlichen Assistenten unter Berufung in das Beamtenverhältnis auf Widerruf ernannt.

